



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FONTES E NÍVEIS DE SELÊNIO *ON TOP* NA DIETA DE LEITÕES
DESMAMADOS

JORGE LUIZ SANTOS DE ALMEIDA

AREIA/PB
FEVEREIRO DE 2019

JORGE LUIZ SANTOS DE ALMEIDA

Lic. Ciências Agrárias

**FONTES E NÍVEIS DE SELÊNIO *ON TOP* NA DIETA DE LEITÕES
DESMAMADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

Prof.^a Dra. Terezinha Domiciano Dantas Martins

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra

AREIA/PB

FEVEREIRO DE 2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A447f Almeida, Jorge Luiz Santos de.

Fontes e níveis de selênio on top na dieta de
leitões desmamados / Jorge Luiz Santos de Almeida. -
Areia, 2019.
62 f.

Orientação: Leonardo Augusto Fonseca Pascoal Pascoal.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Biodisponibilidade. 2. Desmame. 3.
Imunonutrição. 4. Metabolismo. 5. Toxicidade. I.
Pascoal, Leonardo
Augusto Fonseca Pascoal. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: "Fontes de Selênio *On Top* na Dieta de Leitões Desmamados"

AUTOR: JORGE LUIZ SANTOS DE ALMEIDA

ORIENTADOR: Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Elton Roger Alves de Oliveira
Examinador
Universidade Federal Rural do Pernambuco

Profª. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba

Areia, 28 de fevereiro de 2019

DEDICO

Aos meus pais João Batista de Almeida e Rosinete dos Santos Almeida,

Aos meus queridos irmãos, pela ajuda, amor e incentivo;

A minha querida e amada esposa Jazielly Rocha pelo companheirismo e carinho de
sempre, com quem compartilho todos os momentos;

A minha vitória sempre será de todos que amo.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida e por me conceder saúde, paz e esperança nos momentos mais difíceis, e sempre ouvir as minhas orações.

Aos meus pais João Batista de Almeida e Rosinete dos Santos Almeida, que apesar da realidade social e econômica sempre acreditaram nos meus sonhos e abdicaram de suas convicções para me apoiar incondicionalmente.

A minha amada esposa Jazielly Rocha pela paciência, compreensão, palavras de carinho, e acima de tudo por ser sempre minha companheira e incentivar sempre os meus sonhos.

Ao meu orientador, prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, pela orientação e conhecimento repassados, a confiança depositada, e principalmente pelo carinho, respeito, conselhos e palavras de apoio, durante todo o período em que fui seu aluno e orientando.

Aos professores Dr. Ricardo Romão Guerra e Dra. Terezinha Domiciano Dantas Martins, a quem eu respeito muito e contribuíram na orientação e auxiliando pesquisas de laboratório.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia/PPGZ Campus II na cidade de Areia, por todo o conhecimento repassado.

Aos funcionários do Laboratório de Suinocultura; do Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Histologia e o Laboratório de Cromatografia e Análises avançadas do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Alimentar/PPGTA da Universidade Federal da Paraíba por sempre estarem dispostos a ajudar.

Aos integrantes do núcleo de estudos de suínos e coelhos/ NESC pela amizade, companheirismo e dedicação ao me ajudar na pesquisa.

Aos meus colegas e amigos da Pós-Graduação em Zootecnia, do campus II (Areia) e aos meus amigos do CCHSA, campus-III (Bananeiras) em especial os meus colegas de residência (RUM IV) que levarei por toda a vida.

A todos que dedicaram uma palavra amiga de encorajamento, força, positividade no decorrer de todo este difícil percurso.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	8
ABSTRACT.....	9
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	10
CAPÍTULO I- REFERENCIAL TEÓRICO	12
1. REFERENCIAL TEÓRICO	13
1.1 Selênio na dieta	13
1.2 Fontes de selênio	15
1.3 Metabolismo do selênio	17
1.4 Importância do selênio no estresse oxidativo e imunidade animal	19
2. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II- FONTES E NÍVEIS DE SELÊNIO NA DIETA DE LEITÕES DESMAMADOS E SEUS ASPECTOS FUNCIONAIS	29
RESUMO:	30
ABSTRACT:.....	31
1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	34
2.1 Animais e dietas experimentais.....	34
2.2 Desempenho zootécnico.....	37
2.3 Incidência de diarreia	37
2.4 Parâmetros séricos.....	37
2.5 Digestibilidade das dietas.....	38
2.6 Abate dos animais	38
2.7 Morfometria intestinal.....	38
2.8 Análise imunohistoquímica.....	39
2.9 Análise estatística.....	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4. CONCLUSÃO	56
5. REFERÊNCIAS	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ingredientes e composição química das dietas na primeira (28-35 dias), segunda (35-45 dias) e terceira (45-60 dias) fase experimental.....	36
Tabela 2: Ganho diário peso (GDP), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)	41
Tabela 3: Coeficiente de digestibilidade de nutrientes e energia, da dieta de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg).....	43
Tabela 4: Concentrações séricas de Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinina (CRE), Imunoglobulina A (IGA) e Imunoglobulina G (IGG), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)	45
Tabela 5: Concentrações séricas de Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinina (CRE), Imunoglobulina A (IGA) e Imunoglobulina G (IGG), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)	46
Tabela 6: Concentrações séricas de Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinina (CRE), Imunoglobulina A (IGA) e Imunoglobulina G (IGG), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)	47
Tabela 8: Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade de criptas (PC), relação altura das vilosidades: profundidade das criptas (AV/PC), largura da vilosidade (LV) e área absorptiva (AA) do duodeno de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)	49
Tabela 9: Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade de criptas (PC), relação altura das vilosidades: profundidade das criptas (AV/PC), largura da vilosidade (LV) e área absorptiva (AA) do Jejuno de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)	51
Tabela 10: Taxa de mitose celular com anti-PCNA no duodeno e jejuno de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio <i>On Top</i> de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg).....	52

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Efeito da suplementação de Selênio Levedura, Selenito de Sódio e diferentes níveis de Selênio na dieta de leitões desmamados sobre o percentual de escore diarreico 3 (três), que representa a frequência de fezes diarreicas. **DC-** Dieta Controle, **DSL-0.150-** Dieta Selênio Levedura 0,150mg/kg de ração, **DSS-0.150-** Dieta Selenito de Sódio 0,150mg/kg de ração, **DSL-0.300-** Dieta Selênio Levedura 0,300mg/kg de ração, **DSS-0.300-** Dieta Selenito de Sódio 0,300mg/kg de ração. Efeito não significativo ($P < 0,05$) pelo teste de Wilcoxon. 44
- Figura 2:** Imunohistoquímica para anti-PCNA nas criptas de duodeno de suínos com 60 dias de idade. A) Dieta controle sem adição de selênio; B) DSL-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selênio levedura; C) DSS-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selenito de sódio; D) DSL-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selênio levedura; E) DSS-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selenito de sódio. Observar maior positividade nuclear ao anti-PCNA (pontas de setas) nos tratamentos com dieta adicionada de 0,150mg/kg de selênio. Coloração de cromógeno diaminobenzidina (DAB) + hematoxilina..... 54
- Figura 3:** Imunohistoquímica para anti-PCNA nas criptas de jejuno de suínos com 60 dias de idade. A) Dieta controle sem adição de selênio; B) DSL-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selênio levedura; C) DSS-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selenito de sódio; D) DSL-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selênio levedura; E) DSS-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selenito de sódio. Observar maior positividade nuclear ao anti-PCNA (pontas de setas) nos tratamentos com dieta adicionada de 0,150mg/kg de selênio. Coloração de cromógeno diaminobenzidina (DAB) + hematoxilina..... 55

FONTES E NÍVEIS DE SELÊNIO *ON TOP* NA DIETA DE LEITÕES DESMAMADOS

RESUMO GERAL

A suplementação com selênio pode melhorar o sistema imunológico, atuando no controle antioxidante e na modulação da homeostase redox das células, tornando-se uma alternativa ao uso de promotores de crescimento na nutrição de leitões. Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de fontes complexadas ou não a moléculas orgânicas de selênio, assim como nível de suplementação na dieta de leitões recém-desmamados. Para isso, utilizou-se 40 leitões desmamados aos 28 dias de mesma linhagem comercial, com peso médio inicial de $6,60 \pm 1,06$ kg, distribuídos em delineamento em blocos casualizados (DBC) e avaliados em três fases (I – dos 28 aos 35 dias de idade; II - dos 36 aos 45 dias de idade; III – dos 46 aos 60 dias de idade). As dietas experimentais consistiram em: Dieta controle sem adição de fonte selênio; Dieta controle suplementada com 0,150 mg/kg adicional de selênio levedura; Dieta controle suplementada com 0,150 mg/kg adicional de selenito de sódio ; Dieta controle suplementada com 0,300 mg/kg adicional de selênio levedura; Dieta controle suplementada com 0,300 mg/kg adicional de selenito de sódio. Foi avaliado o consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar assim como a incidência de diarreia, digestibilidade dos nutrientes, níveis séricos de gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), imunoglobulina A (IGA), imunoglobulina G (IGG) e creatinina, peso relativo dos órgãos, a morfologia do intestino e imunohistoquímica. A suplementação de 0,300mg/kg independente da fonte reduziu ($P < 0,05$) o consumo diário de ração dos animais avaliados dos 28 aos 60 dias de idade, no mesmo período, a suplementação de selenito de sódio melhorou a conversão alimentar. Já a suplementação de selênio levedura aumentou o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica. O nível de 0,150mg/kg reduziu a concentração sérica de GGT aos 41 dias de idade, já os níveis séricos de IGA e creatinina aumentaram com o nível de 0,300mg/kg aos 51 e 60 dias de idade independente da fonte, a altura de vilosidades, área abortiva do duodeno e área absortiva do jejuno aumentaram com o nível 0,150mg/kg independente da fonte, assim como uma maior taxa de mitose no duodeno. Recomenda-se a suplementação adicional de 0,150mg/kg de selênio, independente da fonte, entendendo-se que o nível adicional de 0,300mg/kg pode causar efeito deletério sobre o consumo, alterações metabólicas e sobre a morfologia do intestino, indicando toxicidade.

Palavras-chave: biodisponibilidade; desmame; imunonutrição; metabolismo; toxicidade

SOURCES AND LEVELS OF SELENIUM *ON TOP* ON DIET OF WEANED PIGLETS

ABSTRACT

Selenium supplementation can improve the immune system by acting on the antioxidant control and modulation of redox cell homeostasis, becoming an alternative to the use of growth promoters in piglet nutrition. The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with or without complex sources on organic selenium molecules, as well as the level of supplementation in the diet of weanling piglets. Forty weaned piglets at 28 days of the same commercial strain were used, with initial average weight of 6.60 ± 1.06 kg, distributed in a randomized block design (DBC) and evaluated in three phases (I - 28 35 days of age II - from 36 to 45 days of age III - from 46 to 60 days of age). The experimental diets consisted of: Control diet without selenium source addition; Control diet supplemented with additional 0.150 mg / kg selenium yeast; Control diet supplemented with an additional 0.150 mg / kg sodium selenite; Control diet supplemented with 0.300 mg / kg additional selenium yeast; Control diet supplemented with an additional 0.300 mg / kg of sodium selenite. Daily feed intake, daily weight gain and feed conversion were evaluated as well as the incidence of diarrhea, nutrient digestibility, serum gamma glutamyl transferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), immunoglobulin A (IGA), immunoglobulin G levels. (IGG) and creatinine, relative organ weight, bowel morphology and immunohistochemistry. Supplementation of 0.300 mg / kg independent of the source reduced ($P < 0.05$) the daily feed intake of the evaluated animals from 28 to 60 days of age, while sodium selenite supplementation improved feed conversion. Selenium yeast supplementation increased the digestibility coefficient of organic matter. The level of 0.150mg / kg reduced serum GGT concentration at 41 days of age, while serum IGA and creatinine levels increased with the level of 0.300mg / kg at 51 and 60 days of age, regardless of source. villus, duodenal abortion area, and jejunal absorptive area increased with the level of 0.150mg / kg regardless of source, as well as a higher rate of duodenal mitosis. Additional supplementation of 0.150 mg / kg selenium is recommended, regardless of source, with the understanding that an additional level of 0.300 mg / kg may cause deleterious effect on consumption, metabolic changes and intestinal morphology, indicating toxicity.

Key-words: bioavailability; weaning; immunonutrition; metabolism; toxicity

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O selênio é um mineral essencial na dieta de suínos, e tem um papel fisiológico importante, principalmente quando associado à atividade de selenoproteínas específicas. Algumas dessas selenoproteínas, a exemplo das glutathione peroxidases, estão envolvidas no equilíbrio redox, atuando no combate de radicais livres e, portanto têm uma função crucial no controle do estresse oxidativo, além de participar ativamente de funções que promovem a imunidade do animal.

Existe uma grande variação na concentração de selênio nos alimentos que compõem as dietas. Por essa razão, a utilização de suplementos minerais tem como intuito suprir a necessidade de selênio da dieta, visando evitar uma possível deficiência.

De modo geral, o selenito de sódio é a forma química mais usada nas dietas de suínos, no entanto, questionamentos sobre a absorção, retenção e toxicidade do selênio na forma inorgânica têm se tornado um fator negativo ao seu uso. Em contrapartida, fontes orgânicas de selênio como selênio levedura resultam em benefícios quando suplementados na dieta de suínos, tendo a selenometionina como principal componente químico, o selênio orgânico apresenta maior biodisponibilidade e eficiência na retenção em tecidos e, portanto maior auxílio nas atividades metabólicas relacionadas às selenoproteínas (SURAI; FISININ, 2016; DUNTAS; BENVENGA, 2015; DALGAARD et al. 2018).

Em suas funções metabólicas, as selenoproteínas têm o seu efeito pronunciado nos períodos em que os suínos sofrem um estresse ou têm o seu sistema imunológico afetado. Em decorrência da exigência metabólica é provável que ocorra deficiência de selênio em momentos como esses, e portanto algumas pesquisas tem voltado a atenção para animais em período reprodutivo, leitões recém-nascidos e ao desmame.

O período pós-desmame agrega vários fatores estressantes relacionados com a separação da matriz, mudança na alimentação, inserção em um ambiente físico diferente, mistura de leitegadas e disputas hierárquicas, todos esses fatores contribuem para que ocorram alterações comportamentais, imunológicas e intestinais nesses animais (CAMPBELL et al., 2013). Por essa razão, a suplementação de selênio de forma adicional pode se mostrar eficiente, potencializando os efeitos benéficos do mineral sobre fatores imunológicos e de proteção antioxidante, especialmente no período pós-desmame.

No presente estudo, serão avaliadas duas fontes de selênio, uma complexada a molécula orgânica e uma inorgânica, suplementadas em dois níveis na dieta de leitões desmamados e em fases posteriores.

CAPÍTULO I- REFERENCIAL TEÓRICO

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Selênio na dieta

O selênio foi identificado como um novo elemento químico em 1817 por um pesquisador sueco chamado Jons Jakob Berzelius. Sua importância biológica passou a ser notada quando foi detectado o seu efeito tóxico, em que animais pastando em certas áreas dos estados americanos de Dakota e Wyoming apresentaram manqueira e até morte (FRANKE, 1934). Além disso, foram feitas descobertas de propriedades carcinogênicas relacionadas ao selênio, o que resultou em proibição de sua utilização na alimentação, pela Food and Drug Administration (FDA) americana.

Em 1957, o pesquisador Klauz Schwars descobriu que o selênio é essencial para prevenção da necrose hepática em ratos, mudando a postura dos pesquisadores em relação a este mineral. Mais tarde foi provado não apenas que o selênio não é carcinogênico mais também a associação do selênio com funções metabólicas importantes através da descoberta da primeira glutathione peroxidase (GPX1) (ROTRUCK et al., 1973), tornou a importância biológica específica de selênio mais clara. Desta forma, em 1974 a FDA autorizou a utilização de selênio na alimentação animal (SURAI, 2002).

No que diz respeito à nutrição de não ruminantes, pesquisas anteriores concentraram-se no papel fisiológico do selênio, uma vez observado que os suínos com deficiência desse mineral sofrem de, por exemplo, MHD (Mulberry Heart Disease) e miopatia nutricional, causando degeneração do músculo esquelético. No caso de aves ocorre necrose hepática e distrofia muscular (KOLLER; EXON, 1986).

Na alimentação de suínos, a FDA aprovou o uso de 0,1 ppm de selênio a todas as dietas, esse nível foi corrigido para 0,3 ppm para suínos até 20 kg, visto que 0,1 ppm não previne sinais de deficiência em leitões desmamados (MAHAN; MOXON, 1978; MEYER et al., 1981).

Nesse sentido a atenção de estudos relacionados ao selênio tomaram outros rumos. Além da toxicidade do mineral, as pesquisas na nutrição de animais focaram-se nas funções metabólicas do nutriente, e as consequências de sua deficiência.

A glutathione peroxidase está envolvida no controle antioxidante catalisando a reação de transformação de peróxido de hidrogênio em água, atuando assim na desintoxicação de hidroperóxidos, e mantendo a homeostase redox celular. Em revisão, Lubos et al. (2011) citam a importância da GPx-1, como sendo a selenoproteína mais

abundante em mamíferos. A proteção das células contra danos oxidativos tem recebido muita atenção, por influenciar principalmente o sistema imunológico e preservação de doenças.

Posteriormente, considerando o mecanismo pelo qual o selênio dietético modula a imunidade e a saúde de suínos, grande atenção tem sido dada às selenoproteínas em especial a glutathione peroxidase, e à sua função metabólica no controle de radicais livres e proteção do sistema imunológico. Um número considerável de resultados experimentais está disponível, sugerindo que selênio principalmente na forma de selenometionina e selenocisteína está presente em tecidos e células do sistema imune em humanos e animais (ROMAN et al., 2014; LABUNSKYY et al., 2014 ; HUANG et al., 2012).

Geralmente a dieta de suínos é suplementada com selenito de sódio a fim de fornecer uma margem de segurança para evitar a condição de deficiência de selênio, no entanto dados indicam que o efeito protetor desse mineral em especial na sua forma orgânica é mais pronunciado sob condições estressantes (SPEIGHT et al., 2012). Nesse sentido, a suplementação dietética de selênio em níveis adicionais para leitões desmamados é uma opção viável, levando em consideração que os leitões nesse estágio fisiológico são bastante exigidos quanto ao seu sistema imunológico, em função de vários fatores estressantes pelo qual os leitões desmamados são submetidos (MAXWELL; CARTER, 2000)

No período pós desmame, em que os leitões passam por um estado de estresse em decorrência do processo de desmame, o sistema imunológico encontra-se fragilizado, os níveis endógenos de selênio não são suficientes para atender a demanda metabólica, e por isso a atividade antioxidante junto à glutathione peroxidase podem ser prejudicadas. Dessa forma o selênio suplementado pode potencializar o suporte imunológico assim como a ação das selenoproteínas.

De acordo com o NRC, (2012), a necessidade dietética de selênio varia de 0,3 ppm para leitões desmamados a 0,15 ppm para suínos em terminação. Os valores referentes Tabela Brasileira de Aves e Suínos propostos por Rostagno et al. (2017), sugerem 0,517 ppm de selênio quando suplementados na forma orgânica, e 0,233 ppm quando suplementado na forma inorgânica, para leitões recém desmamados.

Níveis inferiores a 0,5 ppm de selênio nas formas químicas orgânicas e inorgânicas não causam toxicidade. No entanto, suínos em crescimento alimentados com dieta contendo níveis superiores a 0,5 ppm apresentaram sinais de toxicidade

quando suplementado com selenito de sódio, assim como efeitos rápidos de selenose quando usado selênio levedura (MAHAN; MOXON , 1984; KIM; MAHAN, 2001). No entanto a resistência ou suscetibilidade dos animais à intoxicação de selênio pode ser sensivelmente alterada por uma série de fatores, como idade, estado fisiológico ou até mesmo o estado nutricional do animal (TINGGI, 2003).

Nesse sentido é necessário um estudo a fim de elucidar o melhor nível e formas químicas de suplementação de selênio, sendo que esses parâmetros podem influenciar diretamente no status de selênio no organismo, assim como a retenção e metabolismo do mineral, afetando diretamente as funções das selenoproteínas e seus benefícios na homeostase redox, e imunidade dos animais.

1.2 Fontes de selênio

O selênio pode ser encontrado na natureza em duas formas químicas, complexado a moléculas orgânicas e nas formas inorgânicas. O selênio inorgânico geralmente está na forma de selenito, selenato e seleneto. Em contraste, nas forragens, grãos e farelo de oleaginosas esse mineral encontra-se na forma orgânica, principalmente como selenometionina.

Os animais têm acesso a selênio originalmente através de plantas ou grãos que são usados nas dietas. O mineral não é um elemento essencial para as plantas ou até mesmo leveduras, mas elas são capazes de converter formas minerais de selênio em várias formas orgânicas, a exemplo de selenometionina e selenocisteína como uma estratégia de adaptação (WHITE, 2015). Portanto, os animais recebem selênio naturalmente e principalmente na forma de selenometionina (SURAI, 2006).

Para que o selênio chegue até à alimentação animal, as plantas absorvem o mineral do solo na forma de selenito ou selenato e sintetizam selenoaminoácidos, incluindo selenometionina, que representam cerca de 50% do mineral. Os selenoaminoácidos são depositados nas reservas das plantas, inclusive nos cereais. No entanto, a concentração de selênio no solo varia significativamente (SURAI, 2006). A disponibilidade do selênio para as plantas depende de muitos fatores. No caso de pH do solo ácido ou baixa aeração do solo, o selênio pode formar complexos insolúveis com o hidróxido de ferro e tornar-se indisponível. Consequentemente, o teor de selênio dos ingredientes dos alimentos para animais também varia (WHITE, 2015).

A consequência na variação no teor de selênio vindo de fontes vegetais é a deficiência do mineral na dieta dos animais. Sabendo-se que o requerimento de selênio do animal é muitas vezes superior ao nível endógeno, o mineral é, deve ser adicionado à dieta de forma regular. Nesse contexto, a suplementação dietética de selênio é um meio eficaz para superar a deficiência do mineral e manter um alto desempenho produtivo e reprodutivo de animais de criação (SURAI; FISININ, 2016).

A suplementação da dieta animal com a forma inorgânica de selênio, também denominada de forma mineral de selênio, apresenta algumas desvantagens relacionadas à interação com outros minerais, alta toxicidade relativa, baixa eficiência de transferência ao leite e ovos e incapacidade de construir e manter as reservas do mineral no corpo, como revisado por Dalgaard et al. (2018). Além disso, um efeito pró-oxidante do íon selenito é considerado um potencial negativo em sua utilização (SURAI, 2006 ; FORTIER et al., 2012). Assim, o uso de selenito de sódio em dietas animais tem sido questionado (FALK et al., 2018; FORTIER et al., 2012; SURAI, 2006; SURAI; FISININ, 2014; SURAI; FISININ, 2015).

O desenvolvimento de técnicas que possibilitem a suplementação de selênio ligado a uma molécula orgânica, a exemplo do enriquecimento de levedura com esse mineral, fornece um meio de levar aos animais a mesma forma que eles poderiam obter a partir de ingredientes naturais a sua alimentação. Isso abre uma grande possibilidade nutricional, partindo da alimentação o fornecimento de um ingrediente capaz de influenciar positivamente em aspectos imunológicos e funcionais do animal.

De fato, várias formas comerciais de selênio levedura passaram a ser mmaais utilizadas no mercado, e mostraram serem fontes eficazes de selênio para a produção de suínos e aves. O selênio levedura contém selenometionina como um dos principais compostos, representa em torno de 60% a 70% do total de selênio (SURAI; FISININ, 2015).

Dentre as formas orgânicas de selênio um grande percentual está complexado a metionina, essa é prontamente absorvida pelos enterócitos através do mecanismo de transporte ativo, assim como o da selenocisteína, similar ao envolvido no transporte de seus análogos, metionina e cisteína, fazendo com que a absorção fique em torno de 98%. Por outro lado compostos inorgânicos do selênio são absorvidos por difusão simples, podendo chegar a 90% de absorção. Por essa razão o selênio que é suplementado na dieta em sua forma inorgânica é é absorvido com menos eficiência,

ocorrendo maior excreção que o mineral na forma orgânica (THIRY et al., 2013; SCHRAUZER, 2000).

De modo geral, o selênio orgânico apresenta como grande vantagem a deposição nos tecidos, principalmente nos músculos, servindo como reserva na forma de selenometionina. Assim o animal pode deslocar esse elemento de acordo com as necessidades metabólicas, já que a sistema antioxidante e imunológico depende do teor de selênio para o seu perfeito funcionamento (SURAI, 2006 ; SURAI; FISININ, 2014).

Considerando todos os aspectos mencionados, o uso de fontes orgânicas de selênio tem se mostrado mais eficientes em relação às fontes inorgânicas (SCHRAUZER, 2000; SURAI; FISININ, 2014; SURAI; FISININ, 2016).

1.3 Metabolismo do selênio

O selênio tem propriedades similares às do enxofre e telúrio. Geralmente é encontrado associado com enxofre em compostos orgânicos e inorgânicos, inclusive em substituição ao mesmo, mas em outros compostos, são encontrados complexados por ligação covalente. As formas comuns do selênio inorgânico são os Selenito e Selenato, que são análogas ao sulfito e sulfato, respectivamente. Algumas plantas e microrganismos são capazes de substituir o enxofre por selênio dos aminoácidos cistina, cisteína e metionina produzindo dessa forma compostos como selenocistina, selenocisteína e selenometionina, que são consideradas as formas orgânicas do mineral (BURK, 2013). Por essa razão cada forma química do selênio tem um destino metabólico alterado, desde a absorção no intestino do animal até a deposição e incorporação em selenoproteínas ativas.

A atividade biológica do selênio é dependente de sua disposição metabólica, ou seja, absorção, retenção e excreção. Após ser absorvido, o selênio deve ser transformado em selenocisteína para compor as selenoproteínas, em especial as glutathione peroxidases GPxs, e neste ponto ocorre uma grande diferença entre as fontes. O selenito de sódio é mais prontamente disponível para formar a selenocisteína e compor a glutathione peroxidase, e assim atuar prontamente em situação de deficiência e carência no sistema imunológico e no controle antioxidante. Por outro lado a selenometionina, que é vagarosamente transformada em selenocisteína e a maior parte fica armazenada na forma em que é absorvida (HENRY; AMMERMAN, 1995).

Esta forma de suplementação, portanto, é a reserva endógena que pode ser liberada dos tecidos. Consequentemente, essas fontes orgânicas do mineral se tornam mais eficientes na manutenção do nível de glutathione peroxidase, já que a síntese da mesma é influenciada pela presença de selênio (PAYNE; SOUTHERN, 2005).

Em revisão, Duntas e Benvenga (2015) compararam resultados de estudos cinéticos em humanos e revelaram diferenças consideráveis entre a selenometionina e o selenito de sódio. Observou-se que a selenometionina é melhor absorvida, em torno de 98% contra do selenito de sódio, a captação pelo fígado ocorre mais rapidamente após a ingestão de selenometionina do que após a suplementação com selenito de sódio. Menor excreção de selênio foi observada quando usada a selenometionina em contraste ao selenito de sódio; a excreção fecal foi de 4% versus 18%, a excreção urinária de 11% versus 17% e a excreção total de 15% versus 35%, respectivamente (BEN-PORATH, et al., 1968). Além disso, ainda pode ser observada uma retenção no corpo de 363 dias para selenometionina, comparado a 147 dias para selenito de sódio (PATTERSON, et al. 1989). A maior eficiência na retenção permite maior eficiência no metabolismo da selenometionina.

Devido a estas propriedades, altas dosagens de selenometionina ou suplementação de longo prazo não controlada devem ser evitadas, em função do acúmulo excessivo nos tecidos, podendo provocar distúrbio e toxicidade, pela alta concentração do elemento no organismo, segundo Duntas e Benvenga (2015). Em suas considerações Surai e Fisinin, (2016) sugerem que o selenito de sódio seja tratado como uma droga na prevenção e tratamentos relacionados à deficiência de selênio, enquanto que a o selênio orgânico pode ser tratado como uma forma nutricional de suplementação de selênio, sendo adequado para a manutenção ideal do status do mineral.

Avanços recentes na bioquímica do selênio permitiram compreensão mais abrangente das principais diferenças no metabolismo de fontes orgânicas e inorgânicas. Em estudos com suínos, tem sido dada maior atenção aos períodos em que a deficiência de selênio é provável de ocorrer a exemplo dos leitões recém-nascidos, durante o período reprodutivo, e também no período pos desmame dos leitões, onde a situação os torna vulneráveis, principalmente quanto ao sistema imune (DALGAARD et al. 2018; MAHAN et al., 1977; MAHAN; PETERS, 2004).

1.4 Importância do selênio no estresse oxidativo e imunidade animal

As espécies reativas de oxigênio são geradas por todas as células durante a respiração normal e oxidativa. Se sua produção não for controlado por sistemas antioxidantes, as espécies reativas de oxigênio podem causar danos para lipídeos de membrana celular, proteínas de membranas e DNA. Elas podem ainda combinar com óxido nítrico, formando uma espécie altamente reativa de nitrogênio, ou pode espontaneamente ou por catálise enzimática ser dismutado para formar peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (LUBOS et al., 2011).

O peróxido de hidrogênio tem meia-vida mais longa que o superóxido e, diferentemente deste, pode se transferir através das membranas lipídicas por difusão ou transporte através de canais (ETO et al., 2011). A regulação e a remoção do peróxido de hidrogênio impede a formação do radical hidroxila, altamente reativo e prejudicial, que pode ser formado pela reação de Fenton em condições de estresse que envolve acúmulo de altos níveis de peróxido de hidrogênio intracelular (LI; SHAH, 2004).

O controle de radicais livres através de antioxidantes enzimáticos consiste em uma série de enzimas que catalisam reações de eliminação de diferentes espécies reativas de oxigênio. A superóxido dismutase (SOD-Cu/Zn) está presente no meio extracelular e tem o cobre e zinco como cofatores, na mitocôndria a superóxido desmutase (SOD-Mn) tem como cofator o manganês, ambas desempenham um papel importante em que desmuta o radical superóxido formando peróxido de hidrogênio, enquanto as glutathione peroxidases (GPxs) e a catalase desempenham um papel no catabolismo deste, o convertendo em água (LUBOS et al., 2011; PERRON; BRUMAGHIM, 2009; HALLIWELL, 1994).

As glutathione peroxidases GPxs são selenoproteínas homólogas que atuam na proteção de células contra danos causados pelo estresse oxidativo. A glutathione peroxidase 1 (GPx-1), é a mais abundante selenoproteína em mamíferos. Está presente no citosol e na mitocôndria, onde catalisa a reação dependente de glutathione reduzida GSH, consequentemente, essa enzima antioxidante torna-se potencialmente crucial na prevenção do acúmulo prejudicial de peróxido de hidrogênio nas células. A GPx-2 é encontrada principalmente no epitélio do trato gastrointestinal, enquanto a GPx-3 é encontrada principalmente nos rins e no plasma. A GPx-4 é expressa principalmente em células gastrointestinais; é muito semelhante à citosólica e está presente na mucosa intestinal, nos vilos e nas criptas. A GPx6 é encontrada apenas no epitélio olfatório e

durante o desenvolvimento embrionário. (LABUNSKYY et al., 2014; LUBOS et al., 2011; FLOHE et al., 1973).

A glutathiona peroxidase tem efeito pronunciado na proteção do organismo contra o estresse oxidativo, e a relação dessa proteína com o selênio foi estabelecida em estudos sugerindo que as enzimas glutathiona peroxidase 1 (GPx-1) e glutathiona peroxidase 2 (GPx-2) continham selênio (FLOHE et al., 1973; ROTRUCK et al., 1973 ; URSINI et al., 1982 ; URSINI et al., 1985).

As perturbações do equilíbrio redox intracelular e extracelular podem contribuir para a susceptibilidade e patologia em muitas doenças comuns e complexas. Por essa razão, a atividade antioxidante da glutathiona peroxidase tem sido estudada por seu efeito na modulação de processos em que antioxidantes desempenham papel essencial, incluindo crescimento celular normal e respostas proliferativas, assim como respostas patológicas adaptativas como apoptose ou inflamação (LUBOS et al., 2011; LABUNSKYY et al., 2014; ROMAN et al., 2014).

A relação do selênio com aspectos imunológicos está unido já que as selenoproteínas influenciam a imunidade através de muitos mecanismos (HUANG et al., 2012). O selênio mostrou estar presente em muitos dos principais órgãos imunológicos, a exemplo da medula óssea, timo, fígado, baço e gânglios linfáticos, e pode ser encontrado em linfócitos, como granulócitos e macrófagos (BEHNE; WOLTERS, 1983; HUANG et al., 2012; ROMAN et al., 2014).

Algumas selenoproteínas estão envolvidas na ativação e diferenciação celular e, portanto, são importantes para as respostas imunes inatas e adaptativas (LEE et al., 2013). Muitas células fagocíticas dependem da produção de espécies reativas de oxigênio em suas atividades durante o processo de inflamação, e os sistemas antioxidantes são cruciais para prevenir danos às células do hospedeiro (MCKENZIE et al., 1998). Os macrófagos produzem, como parte de seu mecanismo de eliminação de patógenos, o óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio durante a fagocitose e em resposta, para manter o controle redox, as selenoproteínas atuam como principais antioxidantes para mitigar os efeitos citotóxicos desses radicais livres (VUNTA et al., 2008).

Por essa razão, a sobrevivência das células do hospedeiro depende de fatores bioquímicos e fisiológicos, a proteção de células e tecidos requer equilíbrio oxidativo, ou seja, a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio deve estar em

equilíbrio com os sistemas de defesa antioxidante (VLADIMIROV; PROSKURNINA, 2009).

A glutathione peroxidase 1 tem sido considerada como uma das principais enzimas antioxidantes, e desempenha papel protetor sobre o sistema imunológico, principalmente sob condições de estresse oxidativo. A expressão de GPx-1 é mais sensível a mudanças no status de selênio se comparada com os outros membros das GPxs, em especial nas condições de estresse oxidativo. A síntese global de proteínas parece reduzida sob condições de estresse, como um meio de reservar recursos celulares, e que o GPx-1 se recupera mais rapidamente em comparação com outras selenoproteínas, sendo possível estabelecer uma relação com o status de selênio (PAPP et al., 2007; LUBOS et al., 2011).

Em estudos relacionados à suplementação de selênio em matrizes suínas, demonstra que o status antioxidante, indicado através da avaliação da concentração de α -tocoferol, glutathione peroxidase, superóxido dismutase e glutathione reduzida (GSH), aumentou quando as matrizes foram alimentadas com selênio levedura em comparação com o selenito de sódio. Além disso, a capacidade antioxidante total, atividades de superóxido dismutase, glutathione peroxidase e conteúdo de glutathione nos recém-nascidos e leitões de 21 dias de idade foram melhorados quando o selênio foi adicionado como selênio levedura na dieta das matrizes (CHEN et al., 2016a; CHEN et al., 2016b).

A suplementação com selenometionina na dieta de matrizes demonstrou que houve um aumento da deposição de selênio na progênie, desde o nascimento até o desmame, assim como uma melhora no estado antioxidante, indicado pelo aumento da concentração da glutathione peroxidase GPX, superóxido dismutase SOD e glutathione reduzida GSH nos tecidos dos leitões (HU et al. 2011).

No entanto, embora haja evidências apoiando as vantagens do selênio orgânico para matrizes e leitões, muito poucos estudos estão disponíveis sobre o efeito nos leitões pós-desmame. Por essa razão, o estudo da suplementação de selênio em diferentes níveis, inclusive *over on top*, levando em consideração as diferentes formas químicas, podem elucidar o efeito do selênio sobre o estado antioxidante, imunidade e consequentemente melhores resultados zootécnicos de leitões desmamados.

Nesse sentido o selênio é de grande importância na dieta de leitões desmamados, levando em consideração o estado imunológico dos leitões, e o estresse em que são submetidos, por isso a exigência de selênio pode ser alterada. Por essa razão a dosagem

ou a forma química a qual o selênio é incluso na dieta dos leitões pode causar efeito direto no estado imunológico dos leitões.

2. REFERÊNCIAS

- BEHNE, D., & WOLTERS, W. Distribution of selenium and glutathione peroxidase in the rat. **The Journal of nutrition**, 113(2), 456-46, 1983.
- BEN-PORATH, M., CASE, L., & KAPLAN, E. The biological half-life of ⁷⁵Se-selenomethionine in man. **Journal of Nuclear Medicine**, 9(4), 168-169, 1968.
- BURK, R. F. Selenium in man. **Trace elements in human health and disease**, 2, 105, 2013.
- CAMPBELL, J.M.; CRENSHAW, J.D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, China, v.4: 19, p.1-4. 2013.
- CHEN, J., HAN, J. H., GUAN, W. T., CHEN, F., WANG, C. X., ZHANG, Y. Z. & LIN, G. Selenium and vitamin E in sow diets: I. Effect on antioxidant status and reproductive performance in multiparous sows. **Animal Feed Science and Technology**, 221, 111-123, 2016a.
- CHEN, J., HAN, J. H., GUAN, W. T., CHEN, F., WANG, C. X., ZHANG, Y. Z. & LIN, G. Selenium and vitamin E in sow diets: II. Effect on selenium status and antioxidant status of the progeny. **Animal Feed Science and Technology**, 221, 101-110, 2016b.
- DALGAARD, T. S., BRIENS, M., ENGBERG, R. M., & LAURIDSEN, C. The influence of selenium and selenoproteins on immune responses of poultry and pigs. **Animal Feed Science and Technology**, 238, 73-83, 2018.
- DUNTAS, L. H., & BENVENGA, S. Selenium: an element for life. **Endocrine**, 48(3), 756-775, 2015.
- ETO, M., KAJIHARA, N., MORITA, S., & TOMINAGA, R. A novel electron paramagnetic resonance spin-probe technique demonstrates the relation between the production of hydroxyl radicals and ischemia–reperfusion injury. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, 39(4), 465-470, 2011.
- FALK, M., BERNHOFT, A., FRAMSTAD, T., SALBU, B., WISLØFF, H., KORTNER, T. M., ... & OROPEZA-MOE, M. Effects of dietary sodium selenite and

organic selenium sources on immune and inflammatory responses and selenium deposition in growing pigs. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 50, 527-536, 2018.

FLOHE, L., GÜNZLER, W. A., & SCHOCK, H. H. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. **FEBS letters**, 32(1), 132-134, 1973.

FORTIER, M. E., AUDET, I., GIGUÈRE, A., LAFOREST, J. P., BILODEAU, J. F., QUESNEL, H., & MATTE, J. J. Effect of dietary organic and inorganic selenium on antioxidant status, embryo development, and reproductive performance in hyperovulatory first-parity gilts. **Journal of animal science**, 90(1), 231-240, 2012.

FRANKE, K. W. A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs. 1. Results obtained in preliminary feeding trials. **Journal of Nutrition**, 8, 597-608, 1934.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition reviews**, 52(8), 253-265, 1994.

HENRY, P. R., & Ammerman, C. B. Selenium bioavailability. **In Bioavailability of Nutrients for Animals**. pp. 303-336, 1995.

HU, H., WANG, M., ZHAN, X., LI, X., & ZHAO, R. Effect of different selenium sources on productive performance, serum and milk Se concentrations, and antioxidant status of sows. **Biological trace element research**, 142(3), 471-480, 2011.

HUANG, Z., ROSE, A. H., & HOFFMANN, P. R. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants & redox signaling**, 16(7), 705-743, 2012.

KIM, Y. Y., & MAHAN, D. C. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs. **Journal of animal science**, 79(4), 942-948, 2001.

KOLLER, L. D., & EXON, J. H. The two faces of selenium-deficiency and toxicity--are similar in animals and man. **Canadian Journal of Veterinary Research**, 50(3), 297, 1986.

LABUNSKYY, V. M., HATFIELD, D. L., & GLADYSHEV, V. N. Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. **Physiological reviews**, 94(3), 739-777, 2014.

LEE, B. C., PÉTERFI, Z., HOFFMANN, F. W., MOORE, R. E., KAYA, A., AVANESOV, A., ... & HOFFMANN, P. R. MsrB1 and MICALs regulate actin assembly and macrophage function via reversible stereoselective methionine oxidation. **Molecular cell**, 51(3), 397-404, 2013.

LI, J. M., & SHAH, A. M. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 287(5), R1014-R1030, 2004.

LUBOS, E., LOSCALZO, J., & HANDY, D. E. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants & redox signaling**, 15(7), 1957-1997, 2011.

MAXWELL JR, C. V., & CARTER, S. D. Feeding the weaned pig. **In Swine nutrition** (pp. 690-714). **CRC Press**, 2000.

MAHAN, D. C., MOXON, A. L., & HUBBARD, M. Efficacy of inorganic selenium supplementation to sow diets on resulting carry-over to their progeny. **Journal of animal science**, 45(4), 738-746, 1977.

MAHAN, D. C., & MOXON, A. L. Effects of adding inorganic or organic selenium sources to the diets of young swine. **Journal of Animal Science**, 47(2), 456-466, 1978.

MAHAN, D. C., & MOXON, A. L. Effect of inorganic selenium supplementation on selenosis in postweaning swine. **Journal of animal science**, 58(5), 1216-1221, 1984.

MAHAN, D. C., & PETERS, J. C. Long-term effects of dietary organic and inorganic selenium sources and levels on reproducing sows and their progeny. **Journal of animal science**, 82(5), 1343-1358, 2004.

MCKENZIE, R. C., RAFFERTY, T. S., & BECKETT, G. J. Selenium: an essential element for immune function. **Immunology today**, 19(8), 342-345, 1998.

MEYER, W. R., MAHAN, D. C., & MOXON, A. L. Value of dietary selenium and vitamin E for weanling swine as measured by performance and tissue selenium and glutathione peroxidase activities. **Journal of Animal Science**, 52(2), 302-311, 1981.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. National Academies Press, 2012.

PATTERSON, B. H., LEVANDER, O. A., HELZLSOUER, K., MCADAM, P. A., Lewis, S. A., Taylor, P. R., ... & Zech, L. A. Human selenite metabolism: a kinetic model. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 257(3), R556-R567, 1989.

PAYNE, R. L., & SOUTHERN, L. L. Changes in glutathione peroxidase and tissue selenium concentrations of broilers after consuming a diet adequate in selenium. **Poultry Science**, 84(8), 1268-1276, 2005.

PAPP, L. V., LU, J., HOLMGREN, A., & KHANNA, K. K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. **Antioxidants & redox signaling**, 9(7), 775-806, 2007.

PERRON, N. R., & BRUMAGHIM, J. L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. **Cell biochemistry and biophysics**, 53(2), 75-100, 2009.

ROMAN, M., JITARU, P., & BARBANTE, C. Selenium biochemistry and its role for human health. **Metallomics**, 6(1), 25-54, 2014.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed., Viçosa: UFV, 186p, 2017.

ROTRUCK, J. T., POPE, A. L., GANTHER, H. E., SWANSON, A. B., HAFEMAN, D. G., & HOEKSTRA, W. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, 179(4073), 588-590, 1973.

SCHRAUZER, G. N. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. **The Journal of nutrition**, 130(7), 1653-1656, 2000.

SPEIGHT, S. M., ESTIENNE, M. J., HARPER, A. F., CRAWFORD, R. J., KNIGHT, J. W., & WHITAKER, B. D. Effects of dietary supplementation with an organic source

of selenium on characteristics of semen quality and in vitro fertility in boars. **Journal of animal science**, 90(3), 761-770, 2012.

SURAI, P. F. Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction (pp. 5-9). **Nottingham**: Nottingham University Press, 2002.

SURAI, P. F. Selenium in nutrition and health (Vol. 974). **Nottingham**: Nottingham university press, 2006.

SURAI, P. F., & FISININ, V. I. Selenium in poultry breeder nutrition: An update. **Animal Feed Science and Technology**, 191, 1-15, 2014.

SURAI, P. F., & FISININ, V. I. Selenium in Pig Nutrition and reproduction: Boars and semen quality—A Review. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, 28(5), 730, 2015.

SURAI, P. F., & FISININ, V. I. Selenium in sow nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, 211, 18-30, 2016.

TINGGI, U. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. **Toxicology letters**, 137(1-2), 103-110, 2003.

THIRY, C., RUTTENS, A., PUSSEMIER, L., & SCHNEIDER, Y. J. An in vitro investigation of species-dependent intestinal transport of selenium and the impact of this process on selenium bioavailability. **British Journal of Nutrition**, 109(12), 2126-2134, 2013.

URSINI, F., MAIORINO, M., VALENTE, M., FERRI, L., & GREGOLIN, C. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, 710(2), 197-211, 1982.

URSINI, F., MAIORINO, M., & GREGOLIN, C. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, 839(1), 62-70, 1985.

VLADIMIROV, Y. A., & PROSKURNINA, E. V. Free radicals and cell chemiluminescence. **Biochemistry (Moscow)**, 74(13), 1545-1566, 2009.

VUNTA, H., BELDA, B. J., ARNER, R. J., CHANNA REDDY, C., VANDEN HEUVEL, J. P., & SANDEEP PRABHU, K. Selenium attenuates pro-inflammatory gene expression in macrophages. **Molecular nutrition & food research**, 52(11), 1316-1323, 2008.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants. **Annals of botany**, 117(2), 217-235, 2015.

CAPÍTULO II- FONTES E NÍVEIS DE SELÊNIO NA DIETA DE LEITÕES DESMAMADOS E SEUS ASPECTOS FUNCIONAIS

ALMEIDA, J. L. S. **Fontes e níveis de selênio *on top* na dieta de leitões desmamados.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Orientador: Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. 2019

RESUMO: A suplementação com selênio pode melhorar o sistema imunológico atuando no controle antioxidante e na modulação da homeostase redox das células, tornando-se uma alternativa ao uso de promotores de crescimento na nutrição de leitões. Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de forma adicional de fontes complexadas ou não a moléculas orgânicas de selênio, assim como nível de suplementação na dieta de leitões recém-desmamados. Para isso, utilizou-se 40 leitões desmamados aos 28 dias de mesma linhagem comercial, com peso médio inicial de $6,60 \pm 1,06$ kg, distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso e avaliados em três fases (I – dos 28 aos 35 dias de idade; II - dos 36 aos 45 dias de idade; III – dos 46 aos 60 dias de idade). As dietas experimentais consistiram em: Dieta controle sem adição de fonte selênio; Dieta controle suplementada com 0,150 mg/kg adicional de selênio levedura; Dieta controle suplementada com 0,150 mg/kg adicional de selenito de sódio ; Dieta controle suplementada com 0,300 mg/kg adicional de selênio levedura; Dieta controle suplementada com 0,300 mg/kg adicional de selenito de sódio. Foi avaliado o consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar assim como a incidência de diarreia, digestibilidade dos nutrientes, níveis séricos de gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), imunoglobulina A (IGA), imunoglobulina G (IGG) e creatinina, peso relativo dos órgãos, a morfologia do intestino e imunohistoquímica. A suplementação de 0,300mg/kg independente da fonte reduziu ($P < 0,05$) o consumo diário de ração dos animais avaliados dos 28 aos 60 dias de idade, no mesmo período, a suplementação de selenito de sódio melhorou a conversão alimentar. Já a suplementação de selênio levedura aumentou o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica. O nível de 0,150mg/kg reduziu a concentração sérica de GGT aos 41 dias de idade, já os níveis séricos de IGA e creatinina aumentaram com o nível de 0,300mg/kg aos 51 e 60 dias de idade independente da fonte. A altura de vilosidades, área abortiva do duodeno e área absorptiva do jejuno aumentaram com o nível 0,150mg/kg independente da fonte, bem como maior taxa de mitose no duodeno. Recomenda-se a suplementação adicional de 0,150mg/kg de selênio, independente da fonte, entendendo-se que o nível adicional de 0,300mg/kg pode causar efeito deletério sobre o consumo, alterações metabólicas e sobre a morfologia do intestino, indicando toxicidade.

Palavras-chave: anticorpo; biodisponibilidade; imunonutrição; metabolismo; toxicidade

ALMEIDA, J. L. S. **Sources and levels of selenium *on top* in the diet of weaned piglets.** Dissertation (Master in Animal Science). Advisor: Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal. Graduate Program in Animal Science. UFPB. Areia-PB. 2019.

ABSTRACT: Selenium supplementation can improve the immune system by acting on antioxidant control and modulating redox homeostasis of cells, becoming an alternative to the use of growth promoters in piglet nutrition. The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation from sources that are complex or not to organic selenium molecules, as well as the level of supplementation in the diet of weanling pigs. Forty weaned piglets at 28 days of the same commercial strain were used, with initial average weight of 6.60 ± 1.06 kg, distributed in a randomized block design and evaluated in three phases (I - from 28 to 35 days of age II - from 36 to 45 days of age III - from 46 to 60 days of age). The experimental diets consisted of: Control diet without selenium source addition; Control diet supplemented with additional 0.150 mg / kg selenium yeast; Control diet supplemented with an additional 0.150 mg / kg sodium selenite; Control diet supplemented with 0.300 mg / kg additional selenium yeast; Control diet supplemented with an additional 0.300 mg / kg of sodium selenite. Daily feed intake, daily weight gain and feed conversion were evaluated as well as the incidence of diarrhea, nutrient digestibility, serum gamma glutamyl transferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), immunoglobulin A (IGA), immunoglobulin G levels (IGG) and creatinine, relative organ weight, bowel morphology and immunohistochemistry. Supplementation of 0.300 mg / kg independent of the source reduced ($P < 0.05$) the daily feed intake of the evaluated animals from 28 to 60 days of age, while sodium selenite supplementation improved feed conversion. Selenium yeast supplementation increased the digestibility coefficient of organic matter. The 0.150mg / kg level reduced serum GGT concentration at 41 days of age, while serum IGA and creatinine levels increased with the 0.300mg / kg level at 51 and 60 days of age regardless of source. Villus height, duodenum absorptive area, and jejunal absorptive area increased with the level of 0.150mg / kg regardless of source, as well as higher duodenal mitosis rate. Additional supplementation of 0.150 mg / kg selenium is recommended, regardless of source, with the understanding that an additional level of 0.300 mg / kg may cause deleterious effect on consumption, metabolic changes and intestinal morphology, indicating toxicity.

Key-words: bioavailability; weaning; immunonutrition; metabolism; toxicity

1. INTRODUÇÃO

O desmame de leitões é um momento crucial na produção de suínos. Nesse período, os animais estão mais susceptíveis a distúrbios que podem vir a afetar a imunidade e a fisiologia do animal, fazendo com que acarrete uma depreciação nos resultados zootécnicos no período pós-desmame.

O leitão ao desmame está vulnerável em função da queda no status imunológico, já que nesse momento os distúrbios intestinais são mais frequentes, e os leitões são submetidos a estresse em decorrência da separação da mãe (MAXWELL & CARTER, 2000,). Nesse sentido, a nutrição tem se tornado uma estratégia, para superar desafios imunológicos e fisiológicos, que permitem desde a modulação da microbiota intestinal ao metabolismo de nutrientes e manutenção da imunidade (LIU et al., 2008, HAN et al., 2009, CAO et al., 2014; JAYARAMAN e NYACHOTI, 2017).

O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento na alimentação animal foi, por muito tempo utilizado proporcionas melhores resultados quanto a parâmetros zootécnicos e imunológicos (LOOFT et al., 2012). No entanto, algumas restrições a antibióticos na nutrição têm sido impostas em função da relação com potenciais impactos à saúde pública (VIANA SANTOS et al., 2016).

Auguns minerais específicos são associados a efeitos benéficos sobre o sistema imunológico, tornando-se uma alternativa ao uso de antimicrobianos na nutrição. Através de sua incorporação em selenoproteínas, o Selênio está envolvido na regulação do estresse oxidativo, e respostas imunes inatas e adaptativas (DALGAARD et al., 2018). O Selênio é um mineral que atua juntamente com a selenoproteína glutathione peroxidase (GPX) nos processos oxidativos. A imunidade é influenciada pelas selenoproteínas de várias formas (HUANG et al., 2012).

A GPX1 é a selenoproteína mais abundante em mamíferos, sendo um potente antioxidante celular com efeito crucial no controle de radicais livres no citosol e mitocôndria das células (LUBOS et al., 2011). Assim, a deficiência do selênio pode levar a um sistema imunológico mais frágil (BECK et al., 1995).

Algumas células de defesa como os neutrófilos produzem radicais derivados no combate de microrganismos invasores. Dessa forma, ocorre um equilíbrio entre a produção de radicais e os sistemas que protegem os próprios neutrófilos dos radicais (TURNER & FINCH, 1991 e MCKENZIE et al., 1998). Muitas células fagocíticas produzem espécies reativas de oxigênio em suas atividades bactericidas durante a

inflamação, e os sistemas antioxidantes são cruciais para evitar danos às células do hospedeiro (MCKENZIE et al., 1998).

Os linfócitos deficientes em selênio são menos capazes de proliferar-se em resposta ao mitogênio, no caso dos macrófagos a síntese de leucotrienos B4 que é essencial para a quimiotaxia dos neutrófilos, é prejudicada por essa deficiência. Estes processos podem ser melhorados pela suplementação de selênio (ARTHUR et al., 2003).

A suplementação de selênio na forma inorgânica de apresenta desvantagens relacionadas à interação com outros minerais, alta toxicidade relativa e incapacidade de construir e manter as reservas de Selênio no corpo. Em contrapartida fontes orgânicas possuem maior retenção e deposição no tecido e atividade metabólica (SCHRAUZER, 2000; SURAI e FISININ, 2014 e SURAI e FISININ, 2016). De todos os elementos, o selênio tem uma das faixas mais estreitas entre deficiência dietética (<40 µg / dia) e níveis tóxicos (> 400 µg / dia) (WHO, 1996), o que torna necessário o controle no nível de suplementação em dietas para animais.

Visto que a suplementação com selênio pode melhorar o sistema imunológico, atuando no controle antioxidante e na modulação da homeostase redox das células e tornando-se uma alternativa ao uso de antibióticos na nutrição de leitões, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação adicional de fontes complexadas ou não a moléculas orgânicas do mineral, assim como nível de suplementação sobre parâmetros desempenho produtivo de leitões recém-desmamados e suas respostas fisiológicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio experimental foi realizado no Laboratório de Suinocultura do Departamento de Ciência Animal do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus III, no município de Bananeiras-PB. O protocolo experimental nº 432820121 foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

2.1 Animais e dietas experimentais

No experimento foram utilizados 40 leitões desmamados aos 28 dias de idade, sendo 20 machos castrados e 20 fêmeas, de mesma linhagem comercial (Topigs®), oriundos de granja comercial, localizada no município de Areia-PB, a 50 km de distância até a sede experimental em Bananeiras-PB. O peso médio inicial dos leitões foi de $6,60 \pm 1,06$ kg, os animais foram alojados em gaiolas de creche suspensas, com piso plástico vazado, equipadas com bebedouros do tipo chupeta e comedouros semiautomáticos.

Durante os primeiros 20 dias do período experimental, foram utilizadas lâmpadas incandescentes de 70 W, e colhidas informações de temperatura e umidade do ambiente por meio de termohigrômetro digital, obtendo médias registradas para temperatura máxima e mínima de $28,6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,38$, $23,4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,56$ respectivamente e $78,3\% \pm 4,69$ de umidade.

Os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso (DBC). Foram utilizados cinco tratamentos, cada tratamento com quatro repetições e dois animais por unidade experimental.

As dietas experimentais foram formuladas principalmente por milho, farelo de soja, produto lácteo, suplemento vitamínico, suplemento mineral, calcário e fosfato bicálcico. Todas as dietas foram isentas de hidroxitolueno butilado (BHT), ou outro aditivo antioxidante, assim como de qualquer promotor de crescimento.

As dietas foram formuladas com a inclusão de dois níveis adicionais de selênio, 0,150 e 0,300 mg/kg, na forma de selênio levedura (fonte do mineral complexado a molécula orgânica), produto comercial da empresa YES-MINERALS®, ou selênio inorgânico na forma de selenito de sódio, produto comercial da empresa DINÂMICA®. Foi utilizado também uma dieta controle sem suplementação adicional de selênio. Os tratamentos foram ajustados da seguinte forma: DC – Dieta controle sem adição de

nenhuma fonte adicional de selênio; DSL-0,150 – Dieta controle suplementada de forma adicional com 0,150 mg/kg de selênio levedura; DSS-0,150 – Dieta controle suplementada de forma adicional com 0,150 mg/kg de selenito de sódio; DSL-0,300 – Dieta controle suplementada de forma adicional com 0,300 mg/kg de selênio levedura; DSS-0,300 – Dieta controle suplementada de forma adicional com 0,300 mg/kg de selenito de sódio.

Todas as dietas experimentais foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, com exceção dos níveis de selênio. As dietas foram formuladas para as seguintes fases: I – dos 28 aos 35 dias de idade; II - dos 36 aos 45 dias de idade; III – dos 46 aos 60 dias de idade (Tabela 1), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2017).

Tabela 1: Ingredientes e composição química das dietas na primeira (28-35 dias), segunda (35-45 dias) e terceira (45-60 dias) fase experimental

Ingredientes (%)	Fase experimental		
	I	II	III
Milho	45,78	52,92	70,02
Farelo de soja	32,76	29,10	23,90
Soro de Leite em pó	12,00	8,00	0,00
Óleo de soja	4,34	4,09	0,95
Fosfato bicálcico	1,958	1,880	1,727
Calcário	0,990	0,893	0,704
L-Lisina	0,546	0,556	0,449
L-Treonina	0,306	0,294	0,172
Sal	0,273	0,348	0,472
DL-Metionina	0,240	0,223	0,119
L-Arginina	0,230	0,223	0,000
L-Valina	0,137	0,131	0,041
L-Triptofano	0,055	0,057	0,039
Premix vitamínico ¹	0,200	0,200	0,200
Premix mineral ²	0,100	0,100	0,100
Inerte ³	0,100	0,995	1,100
Composição nutricional calculada			
Energia Metabolizável Mcal/kg	3,400	3,375	3,250
Proteína Bruta %	21,420	19,870	17,690
Lisina %	1,451	1,346	1,097
Metionina+Cistina %	0,813	0,754	0,625
Treonina %	0,972	0,902	0,713
Triptofano %	0,276	0,256	0,208
Valina %	1,001	0,929	0,760
Histidina %	0,482	0,450	0,415
Isoleucina %	0,816	0,740	0,636
Leucina %	2,000	1,921	1,759
Arginina %	1,451	1,346	1,019
Fenilalanina %	0,905	0,841	0,771
Fenilalanina+Tirosina %	1,550	1,442	1,323
Sódio %	0,224	0,219	0,199
Cálcio %	1,068	0,973	0,794
Fósforo Disponível %	0,528	0,481	0,393
Potássio %	0,997	0,869	0,662
Cobre mg/kg	89,630	89,184	88,697
Ferro mg/kg	93,219	89,409	85,641
Zinco mg/kg	54,975	54,820	56,098
Manganês mg/kg	31,205	30,416	29,667
Tratamentos	Selênio mg/kg		
Dieta controle	0,2762	0,2651	0,2542
Dieta Selênio levedura (0,150 mg/kg)	0,4262	0,4151	0,4042
Dieta Selenito de sódio (0,150 mg/kg)	0,4263	0,4152	0,4043
Dieta Selênio levedura (0,300 mg/kg)	0,5762	0,5651	0,5542
Dieta Selenito de sódio (0,300 mg/kg)	0,5794	0,5683	0,5574

1 - Suplemento mineral: Iodo – 140 mg/kg; Selênio – 100 mg/kg; Manganês – 10 mg/kg; Zinco – 100 mg/kg; Cobre – 10 mg/kg; Ferro – 99 mg/kg. 2 - Suplemento Vitamínico: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 mcg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg. 3 - Areia lavada usada como inerte. O volume de inerte foi alterado de acordo com a inclusão do suplemento de selênio em função da dieta. Da mesma forma na terceira fase o inerte foi substituído parcialmente em função da entrada da cinza insolúvel em ácido (CIA) para realização da digestibilidade da dieta.

2.2 Desempenho zootécnico

Os animais e as sobras de ração foram pesados no início e final de cada fase, a partir desses dados foram calculados o consumo diário de ração (CDR), o ganho diário de peso (GDP), e a conversão alimentar (CA). Os resultados de desempenho foram analisados nos períodos de 28 aos 45 e 28 aos 60 dias de idade.

2.3 Incidência de diarreia

Com o objetivo de verificar a influência das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia, foi realizado o levantamento dos escores fecais dos leitões, do 28º a 46º dia do período experimental. A consistência das fezes foi verificada duas vezes ao dia, às 08:00 horas da manhã e às 17:00 horas da tarde, mediante análise visual, de acordo com os seguintes escores: 1 – fezes normais, 2 – fezes pastosas e 3 – fezes aquosas. Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarreicas e o 3, diarreicas. Estas identificações foram realizadas sempre pelo mesmo observador (PASCOAL et al., 2012).

2.4 Parâmetros séricos

No decorrer do experimento foram colhidas amostras de sangue para determinação dos níveis de Imunoglobulina A (IGA), Imunoglobulina G (IGG), Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST) e Creatinina. As amostras foram colhidas na veia jugular de um leitão de cada unidade experimental aos 41, e aos 51 dias de idade, com auxílio de seringa e agulha. No dia do abate aos 60 dias de idade foi coletado uma terceira amostra de sangue.

As amostras foram colhidas em tubos sem anticoagulante. Imediatamente após a coleta, foram centrifugadas a 958 xg por 10 minutos e o soro obtido foi transferido para microtubos (Eppendorf®) e resfriado para posterior processamento das análises bioquímicas séricas. A determinação das concentrações séricas de IgA, IgG, GGT, AST e creatinina foi realizada em espectrofotômetro utilizados kits comerciais Labtest®, seguindo o procedimento determinado pelo fabricante. Os kits utilizados foram respectivamente: IgA Turbiquet (Ref.: 358), IgG Turbiquet (Ref.: 359), Gama GT Liquiform (Ref.: 105), AST/Got Liquiform (Ref.: 109) e Creatinine K (Ref.: 96).

2.5 Digestibilidade das dietas

Durante a terceira fase experimental, foi realizada a avaliação biológica das dietas, utilizando o método de coleta parcial das fezes. No primeiro dia de cada período, para avaliação da digestibilidade, foram adicionadas às dietas 1% de cinza insolúvel em ácido (CIA) em substituição ao inerte. O período experimental teve duração de 7 dias, sendo os três primeiros dias para adaptação dos animais às dietas e fluxo da digesta pelo trato, e os quatro últimos dias para a coleta de fezes diretamente do reto de todos os animais, duas vezes ao dia, e as amostras mantidas congeladas.

Ao fim do período experimental, as fezes de cada animal foram descongeladas, homogeneizadas e amostradas. As porções de fezes foram submetidas à pré-secagem, em estufa com circulação de ar forçada a 55° C durante 72 horas, e posteriormente moídas em moinho do tipo —facas‖ com peneiras com crivos de 1mm. As amostras de ração foram apenas moídas. Para determinação da CIA, foram utilizados os procedimentos descritos por Carvalho et al. (2013). Nas amostras de fezes e ração, foram realizadas análises de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB), em seguida, foram calculados os coeficientes de digestibilidade conforme descrito por Sakomura & Rostagno (2007).

2.6 Abate dos animais

Ao final do período experimental, aos 60 dias de idade, após passar por um jejum prévio de 12 horas, foram abatidos vinte animais, sendo um animal de cada unidade experimental, selecionados de acordo como peso vivo, correspondente ao peso médio mais próximo da parcela. O procedimento de abate atendeu aos padrões de abate humanitário e às recomendações sugeridas pelo CONCEA. Após insensibilização por eletronarcose, os animais foram abatidos por sangria em virtude de incisão na veia jugular.

2.7 Morfometria intestinal

No estudo da estrutura do intestino delgado foram colhidas amostras de aproximadamente 1 cm a 10cm do início do duodeno e 25-35cm do início do jejuno. A fixação dos segmentos intestinais e do fígado foi realizada em solução de Metacarn (contendo 60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido acético) durante um período de doze horas, e mantidos refrigerados. Em seguida, as amostras foram

mantidas em solução de álcool à 70%. Para a realização das análises morfométricas do intestino delgado, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Agrárias (CCA) / UFPB, Campus II, na cidade de Areia/UFPB.

As amostras permaneceram por cerca de vinte e quatro horas em solução de álcool 70%, em seguida foram lavadas em água corrente durante cinco minutos para depois serem desidratadas em série crescente de álcoois e passagem por bateria de xilol e, ao fim dessa etapa, incluídas em parafina. Em um momento posterior, realizou-se a microtomia dos blocos de parafina para a confecção das lâminas histológicas.

As lâminas de intestino delgado foram coradas utilizando a coloração de hematoxilina/eosina para a avaliação das variáveis altura de vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) e largura de vilo (LV).

Para avaliar a altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC), relação vilo/crípta (AV/PC) e largura de vilo (LV), foi realizada a metodologia modificada descrita por Moreira Filho et al. (2015). Para as leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension. A área absorviva (AA) foi determinada segundo metodologia descrita por Silva (2015).

2.8 Análise imunohistoquímica

A confecção das lâminas histológicas seguiu o mesmo procedimento daquelas utilizadas na análise de morfometria intestinal. Já para a determinação da taxa de mitose nas criptas da mucosa da porção inicial do duodeno e média do jejuno foi utilizado o anticorpo primário Anti-PCNA (Abcam®). O protocolo utilizado para a detecção de morte celular e revelação de Proteína Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) foi baseado na técnica de imunohistoquímica (LUNA et al., 2014).

Após a desparafinização das lâminas, em baterias de xilol e álcool, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com três banhos, de dez minutos cada, de solução de peróxido de hidrogênio. A recuperação antigênica foi feita com solução de tampão citrato (pH 6,0) em micro-ondas durante dez minutos, seguido de um tempo de vinte minutos para que a temperatura baixasse.

A seguir foi realizado o bloqueio das proteínas endógenas, com incubação das lâminas em Protein Block (DAKO), durante trinta minutos. Na etapa seguinte, as lâminas foram incubadas a 4°C (por 12 horas), com anticorpo primário contra PCNA

(Abcam®) diluído em solução de tampão fosfato – PBS (1:100) para revelação da taxa de mitose nas células.

No dia seguinte, foi colocado nas lâminas o anticorpo secundário biotina durante quinze minutos, com posterior incubação em complexo conjugado de Streptavidina-peroxidase (DAKO-LSAB) por trinta minutos. Logo após, foi usada a diaminobenzidina (DAB-DAKO) durante cinco minutos como cromógeno para revelação da reação. A coloração dos cortes foi realizada com hematoxilina-eosina.

Entre as etapas foram realizadas três lavagens, de três minutos cada, com solução de PBS (pH 7,4). Ao fim, as lâminas foram desidratadas em séries crescentes de álcool, diafanizadas com xilol e montadas. As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension.

Para avaliação da taxa de mitose nas células da porção inicial do duodeno e média do jejuno foram analisadas as criptas, medidas de maneira aleatória, perfazendo 10.000 μm de epitélio por tratamento. Tais epitélios foram quantificados quanto ao número de núcleos anti-PCNA+. Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador.

2.9 Análise estatística

A avaliação dos dados foi realizada em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$ (sendo dois níveis e duas fontes de selênio, mais o tratamento controle). Foi utilizado o contraste para observar o efeito entre a dieta controle e as demais dietas, em seguida avaliado o efeito dos fatores entre fonte e níveis. A normalidade dos erros foi observada pelo teste de Cramer-von Misses. Os dados foram submetidos à análise de variância por meio do procedimento GLM (General Linear Models) no programa estatístico SAS (SAS University, 2018) em seguida os fatores comparados pelo T de Student. Para a avaliação da incidência de diarreia foi utilizada a estatística não paramétrica, sendo as observações comparadas pelo teste de Wilcoxon (5%).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A suplementação de selênio influenciou o consumo de ração e a conversão alimentar. Houve efeito de interação entre fonte selênio levedura e nível e o nível adicional de 0,300mg/kg ($P < 0,05$) para a variável consumo diário de ração CDR nos dois períodos, nesse caso o CDR dos animais foi menor quando alimentados com dieta contendo 300mg/kg de selênio levedura (Tabela 2).

Tabela 2: Ganho diário peso (GDP), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

Período I (28 a 45 dias de idade)											
Var6	Nível1	Fonte3		Média	DC2	Fatorial4			EPM	Contrastes	EPM
	(mg/kg)	DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	
CDR	0,15	0,371aA	0,349aA	0,360	0,353						
(kg)	0,30	0,330bB	0,360aA	0,345		0,132	0,651	0,018	0,018	0,954	0,024
	Média	0,351	0,355								
GDP	0,15	0,204	0,198	0,201	0,199						
(kg)	0,30	0,186	0,222	0,204		0,854	0,337	0,207	0,03	0,827	0,029
	Média	0,195	0,210								
CA	0,15	1,825	1,862	1,844	1,807						
(kg/kg)	0,30	1,810	1,641	1,726		0,41	0,636	0,47	0,273	0,884	0,268
	Média	1,818	1,751								
Período II (28 a 60 dias de idade)											
CDR	0,15	0,669aA	0,620aA	0,645A	0,611						
(kg)	0,30	0,562aB	0,597aA	0,580B		0,006	0,719	0,046	0,036	0,955	0,035
	Média	0,616	0,609								
GDP	0,15	0,424	0,410	0,417A	0,396						
(kg)	0,30	0,345	0,386	0,365B		0,017	0,449	0,158	0,035	0,821	0,033
	Média	0,384	0,398								
CA	0,15	1,583	1,514	1,549	1,543						
(kg/kg)	0,30	1,656	1,547	1,601		0,216	0,052	0,633	0,079	0,488	0,08
	Média	1,620a	1,530b	1,575							

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito ($P > 0,05$). ¹ Nível de selênio suplementar. ² DC- Dieta Controle. ³ DSL- Dieta Selênio Levedura, DSS- Dieta Selenito de Sódio. ⁴ Valor P para N- Nível, F- Fonte e N*F- Interação entre Nível e Fonte. ⁵ Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. ⁶ Variável analisada. EPM- Erro Padrão da Média.

O nível adicional de 0,150mg/kg de suplementação apresentou os maior CDR e GDP entre 28 e 60 dias ($P<0,05$) independente da fonte (Tabela 2). Selênio levedurapiorou ($P<0,05$) a conversão alimentar (CA) no segundo período, dos 28 a 60 dias de idade, quando comparado o selenito de sódio (Tabela 2). O contraste entre a dieta controle (DC) e os demais tratamentos demonstrou que não houve efeito ($P>0,05$) entre o nível mínimo de selênio e os níveis adicionais, juntamente com suas respectivas fontes.

O maior nível de selênio, 0,300mg/kg, proporcionou uma redução no consumo de ração, e consequentemente um menor ganho de peso, somente para dieta selênio levedura. Lyons et al. (2007) concluíram que as formas orgânicas de selênio são mais biodisponíveis do que inorgânicas (selenito de sódio). A variação do nível de selênio, assim como as diferentes fontes afetam a deposição de selênio no músculo, conforme evidenciado anteriormente (ZOIDIS et al., 2014).

O maior nível de selênio, associado a sua alta biodisponibilidade, pode regular o consumo por parte do animal no intuito de evitar intoxicação. De modo contrário, Cao et al. (2014), observaram que suínos alimentados com níveis de 0,3 e 0,7 mg/kg de selenometionina mostraram melhor conversão alimentar durante o período de 22 a 42 dias em relação a dieta com baixo selênio (0,1 mg/kg). No nosso trabalhos a dieta com selenito de sódio demonstrou uma maior eficiência na conversão alimentar no período de 28 a 60 dias.

O coeficiente de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia não foram influenciados ($P>0,05$) pelos níveis de selênio, ou pelas fontes do mesmo. No entanto, a matéria orgânica e matéria mineral foram afetadas ($P<0,05$) pela fonte de suplementação, sendo que os animais alimentados com dieta suplementada de selênio levedura apresentaram maior coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica (80,43), já para matéria mineral o melhor coeficiente foi observado para fonte selenito de sódio (48,85) (Tabela 3).

Tabela 3: Coeficiente de digestibilidade de nutrientes e energia, da dieta de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

Var ₆	Coeficiente de Digestibilidade (%)										
	Nível ₁ (mg/kg)	Fonte ₃		Média	DC ₂	Fatorial ₄			EPM	Contrastes	
		DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	EPM
Matéria Seca	0,150	89,61	84,25	86,93	92,10	0,162	0,124	0,215	3,532	0,080	3,578
	0,300	89,94	89,30	89,62							
	Média	89,77	86,77								
Matéria Mineral	0,150	37,74	54,30	46,02	49,89	0,286	0,021	0,069	6,813	0,121	6,213
	0,300	40,90	43,41	42,16							
	Média	39,32_b	48,85_a								
Matéria Orgânica	0,150	79,47	75,70	77,58	82,71	0,231	0,027	0,967	2,911	0,028	3,000
	0,300	81,40	77,51	79,45							
	Média	80,43_a	76,60_b								
Proteína Bruta	0,150	69,47	65,65	67,56	77,54	0,128	0,200	0,900	5,059	0,011	4,673
	0,300	73,39	70,21	71,80							
	Média	71,43	67,93								
Energia	0,150	74,90	73,15	74,03	79,71	0,133	0,254	0,904	3,195	0,030	3,179
	0,300	77,73	75,59	76,66							
	Média	76,32	74,37								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito ($P>0,05$). 1 Nível de selênio suplementar. 2 **DC**- Dieta Controle. 3 **DSL**- Dieta Selênio Levedura, **DSS**- Dieta Selenito de Sódio. 4 Valor P para **N**- Nível, **F**- Fonte e **N*F**- Interação entre Nível e Fonte. 5 Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. 6 Variável analisada. **EPM**- Erro Padrão da Média.

O consumo de ração no segundo período de avaliação entre 28 a 60 dias foi menor por animais alimentados com dieta suplementada de selênio levedura no nível de 0,300mg/kg de selênio (Tabela 2). Segundo Li e Patience (2017), o consumo de alimentos suficiente, mas não excessivo, nos suínos é geralmente associado a melhor desempenho de crescimento e eficiência alimentar. Com uma redução na ingestão de alimento pode ter ocorrido maior aproveitamento dos nutrientes no trato digestivo dos leitões, proporcionando assim melhoria no coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica, que consequentemente, influenciou diretamente no coeficiente de digestibilidade da matéria mineral.

Na Figura 1, podemos observar que a suplementação de selênio levedura e selenito de sódio aos níveis de 0,150 e 0,300mg/kg não influenciaram ($P>0,05$) a incidência de diarreia. Da mesma forma, a dieta controle não diferiu dos demais tratamentos.

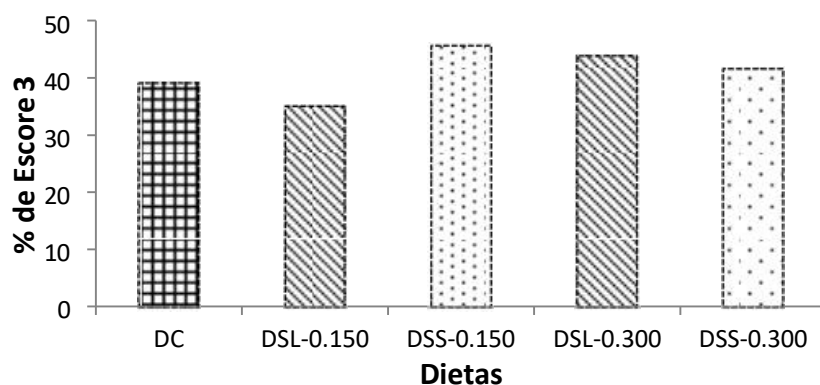


Figura 1: Efeito da suplementação de Selênio Levedura, Selenito de Sódio e diferentes níveis de Selênio na dieta de leitões desmamados sobre o percentual de escore diarreico 3 (três), que representa a frequência de fezes diarreicas. **DC-** Dieta Controle, **DSL-0.150-** Dieta Selênio Levedura 0,150mg/kg de ração, **DSS-0.150-** Dieta Selenito de Sódio 0,150mg/kg de ração, **DSL-0.300-** Dieta Selênio Levedura 0,300mg/kg de ração, **DSS-0.300-** Dieta Selenito de Sódio 0,300mg/kg de ração. Efeito não significativo ($P < 0,05$) pelo teste de Wilcoxon.

A incidência de diarreia pode ocorrer por disfunções patológicas, fisiológicas e digestivas. No caso de patológicas, o objetivo de usar estratégias nutricionais é impedir a fixação e colonização do trato gastrointestinal por bactérias patogênicas ou aumentar a resposta imunológica da mucosa intestinal (LIU et al., 2018).

No caso da imunologia, estudos sugerem que a ação do selênio no aumento da resistência de leitões recém-desmamados depende da transferência de mineral da porca para a progênie através do colostro e leite (DALGAARD et al., 2018). Ressaltando a maior eficiência do selênio orgânico nesse processo (MAHAN e PETERS, 2004, YOON e MCMILLAN, 2006).

A incidência de diarreia pode acontecer por disfunções fisiológicas e digestivas; o desmame induz mudanças notáveis na morfologia intestinal e na função intestinal, como atrofia das vilosidades e hiperplasia da cripta, o que dificulta a capacidade digestiva e absorviva do intestino delgado (PLUSKE et al., 1995),

Fica evidente, portanto, que o controle da diarreia não deve considerar unicamente fatores ligados a patógenos (DOWARAH et al., 2017). É possível que a ocorrência de diarreia de origem nutricional não seja influenciada pelo selênio.

As concentrações séricas de aspartato aminotransferase (AST) aos 41, 51 e 60 dias de idade não foram influenciadas ($P > 0,05$) pela dieta (Tabela 4, 5 e 6). Já os valores de gama-glutamil transferase (GGT) aos 41 dias de idade foram menores quando foi usado 0,300mg/kg de selênio adicional (Tabela 4), não havendo influência da fonte ($P > 0,05$).

Tabela 4: Concentrações séricas de Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinina (CRE), Imunoglobulina A (IGA) e Imunoglobulina G (IGG), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

II fase (41 dias de idade)											
Var ⁶	Nível ¹	Fontes		Média	DC ²	Fatorial ⁴			EPM	Contrastes	EPM
	(mg/kg)	DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	
AST	0,15	96,78	95,1	95,94	91,65	0,356	0,352	0,505	11,603	0,804	10,304
U/L	0,3	95,15	85,43	90,29							
	Média	95,96	90,26								
GGT	0,15	85,05	83,68	84,36 ^A	81,05	0,051	0,489	0,748	7,055	0,87	7,095
U/L	0,3	78,26	74,55	76,41 ^B							
	Média	81,66	79,11								
CRE	0,15	1,85	2,45	2,15	2,15	0,603	0,256	0,695	0,742	0,793	0,666
mg/dl	0,3	2,2	2,5	2,35							
	Média	2,03	2,48								
IGG	0,15	463,2	479,85	471,53	488,25	0,336	0,468	0,664	27,597	0,508	25,441
mg/dl	0,3	483,43	487,68	485,55							
	Média	473,31	483,76								
IGA	0,15	43,63	45,03	44,33	47,725	0,517	0,987	0,651	5,777	0,405	5,021
mg/dl	0,3	46,93	45,63	46,28							
	Média	45,28	45,33								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito (P>0,05). ¹ Nível de selênio suplementar. ² DC- Dieta Controle. ³ DSL- Dieta Selênio Levedura, DSS- Dieta Selenito de Sódio. ⁴ Valor P para N- Nível, F- Fonte e N*F- Interação entre Nível e Fonte. ⁵ Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. ⁶ Variável analisada EPM- Erro Padrão da Média.

A avaliação de biomarcadores metabólicos pode ser um importante recurso para observar o efeito de possíveis distúrbios metabólicos em detrimento da nutrição dos animais. Neste contexto, as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transpeptidase (GGT) são consideradas importantes marcadores da função hepática e avaliação do perfil metabólico enzimático (TENNANT, 1997).

A enzima AST está presente no fígado, músculo esquelético e cardíaco, sendo indicadora de lesão hepática aguda ou crônica. A lesão no tecido hepático faz com que essa enzima extravase para a circulação sistêmica, alterando assim os seus níveis séricos. Já a GGT é uma enzima associada a tecidos como fígado, rins e intestino, sendo os seus níveis séricos também associados a distúrbios hepáticos (TENNANT, 1997).

Tanto os níveis de AST quanto o níveis de GGT foram superiores ao que é considerado normal por Kaneko (1989), sugerindo estado de distúrbio metabólico

sofrido pelos leitões. No entanto, os menores níveis de GGT foram expressos quando os leitões receberam dietas suplementadas com o nível de 0,300mg/kg, o que pode ter ocorrido por uma possível ação protetora, em que as selenoproteínas atuaram preservando a integridade de células hepáticas, reforçando um possível efeito imunológico. Os níveis expressos de AST foram superiores aos encontrados por Arantes et al. (2007), que trabalharam com níveis de zinco na dieta de leitões recém desmamados, obteve de 9,25 a 32,01 U/L de AST entre 0 a 41 dias após o desmame, já para GGT, nas coletas feitas aos 7, 14, 21 dias pós desmame, Arantes e colaboradores encontraram resultados semelhantes aos nossos (86,06, 96,65 e 76,57 U/L de GGT respectivamente).

A concentração de Imunoglobulina G (IGG) aos 51 dias de idade foi influenciada ($P < 0,05$) pelo nível de selênio, assim como a fonte de suplementação do mineral, apresentando efeito de interação. O menor nível de IGG foi encontrado na dieta suplementada com selênio levedura no nível de 0,150mg/kg (Tabela 5).

Tabela 5: Concentrações séricas de Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinina (CRE), Imunoglobulina A (IGA) e Imunoglobulina G (IGG), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

Var ⁶	Nível (mg/kg)	Fontes		III fase (51 dias de idade)							
		DSL	DSS	Média	DC ²	Fatorial ⁴			EPM	Contrastes	
						N	F	N*F		DC x Demais	EPM
AST	0,15	100,43	102,23	101,33	103	0,484	0,952	0,738	8,832	0,539	9,301
U/L	0,3	98,73	97,48	98,1							
	Média	99,58	99,85								
GGT	0,15	86,45	90,28	88,36	84,53	0,319	0,778	0,265	5,17	0,438	5,514
U/L	0,3	86,8	84,48	85,64							
	Média	86,63	87,38								
CRE	0,15	2	2,38	2,19 _B	2,43	0,004	0,097	0,378	0,27	0,872	0,271
mg/dl	0,3	2,65	2,78	2,71 _A							
	Média	2,33	2,58								
IGG	0,15	477,95 _{bb}	502,83 _{aa}	490,39	501,58	0,284	0,309	0,048	14,803	0,351	12,846
mg/dl	0,3	503,28 _{aa}	494,35 _{aa}	498,81							
	Média	490,61	498,59								
IGA	0,15	45,13	38,68	41,90 _B	50,23	0,006	0,107	0,219	4,147	0,064	4,082
mg/dl	0,3	49,73	48,75	49,24 _A							
	Média	47,43	43,71								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito ($P > 0,05$). 1 Nível de selênio suplementar. 2 DC- Dieta Controle. 3 DSL- Dieta Selênio Levedura, DSS- Dieta Selenito de Sódio. 4 Valor P para N- Nível, F- Fonte e N*F- Interação entre Nível e Fonte. 5 Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. 6 Variável analisada. EPM- Erro Padrão da Média.

A fim de observar o efeito da suplementação dietética de selênio inorgânico (selenito) e orgânico (Se-levedura) em níveis diferentes (0,15 e 0,30 mg / kg Se), Mahan (2000) concluiu que o selênio inorgânico foi biologicamente mais disponível para a atividade GPX, enquanto que Se orgânico foi mais eficazmente incorporados. Assim podemos acreditar que a fonte inorgânica seja capaz de alterar mais facilmente a imunidade do animal em detrimento da fonte orgânica.

O nível de 0,300 mg/kg influenciou ($P<0,05$) as concentrações séricas de creatinina (CRE) e imunoglobulina A (IGA) aos 51 e 60 dias de idade, respectivamente, apresentando os maiores índices para estes parâmetros (Tabelas 5 e 6).

Tabela 6: Concentrações séricas de Gama Glutamil Transferase (GGT), Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinina (CRE), Imunoglobulina A (IGA) e Imunoglobulina G (IGG), de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

III fase (60 dias de idade)											
Var ₆	Nível ₁	Fonte ₃		Média	DC ₂	Fatorial ₄			EPM	Contrastes	EPM
	(mg/kg)	DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	
AST	0,15	102,1	105,98	104,31	101,28	0,121	0,905	0,431	7,335	0,913	6,718
U/L	0,3	98,95	96,5	97,73							
	Média	100,3	101,24								
GGT	0,15	89,57	91,65	90,76	86,63	0,311	0,963	0,464	5,131	0,401	5,275
U/L	0,3	88,9	86,88	87,89							
	Média	89,19	89,26								
CRE	0,15	2,43	2,55	2,50 _B	2,73	0,0003	0,174	0,557	0,104	0,397	0,114
mg/dl	0,3	2,8	2,85	2,83 _A							
	Média	2,64	2,7								
IGG	0,15	497,13	502,58	500,24	503,45	0,971	0,811	0,162	7,394	0,396	6,43
mg/dl	0,3	503,6	497,18	500,39							
	Média	500,83	499,88								
IGA	0,15	46,97	41,48	43,83 _B	51,1	0,015	0,289	0,196	3,98	0,084	3,799
mg/dl	0,3	50,05	50,4	50,23 _A							
	Média	48,73	45,94								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito ($P>0,05$). 1 Nível de selênio suplementar. 2 **DC**- Dieta Controle. 3 **DSL**- Dieta Selênio Levedura, **DSS**- Dieta Selenito de Sódio. 4 Valor P para **N**- Nível, **F**- Fonte e **N*F**- Interação entre Nível e Fonte. 5 Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. 6 Variável analisada. **EPM**- Erro Padrão da Média.

As concentrações de creatinina aos 51 e 60 dias de idade foram alteradas, sendo observado maior concentração sérica ao nível de 0,300mg/kg de selênio. A

concentração de creatinina dentro do padrão considerado normal para suínos que é de 1,0 a 2,7 mg/dL (KANEKO et al., 1997). Níveis muito altos de creatinina no sangue indicam deficiência na funcionalidade renal, que pode ter sido alterado com o nível mais alto de selênio.

A imunoglobulina A é um anticorpo que participa da imunidade das mucosas que recobrem órgãos como boca, intestino e estômago. As maiores concentrações séricas de IGA foram encontrados em animais alimentados com dieta suplementada com 0,300mg/kg de selênio, sugerindo uma ativação do sistema imunológico, potencializando o efeito desse anticorpo. Porém essa maior concentração de IGA pode estar ligado a resposta de um possível efeito tóxico apresentado por animais alimentados com dieta suplementada com 0,300mg/kg.

Após o desmame os animais possuem maior exigência de selênio do que nas fases seguintes, conforme sugerido pelo National Research Council, (2012), até por esse motivo o nível de selênio de 0,300mg/kg reduziu a concentração de GGT, indicando o seu efeito benéfico (Tabela 4); já nas fases seguintes, quando o nível de selênio suplementado na dieta excede a exigência, além do efeito acumulativo no organismo, o maior nível de selênio proporcionou redução no consumo de ração (Tabela 2), indicando um possível mecanismo para evitar a toxidez, da mesma forma os níveis de creatinina aos 51 e 60 dias de idade foram aumentados, o que pode ter ocorrido por um efeito deletério do nível elevado de selênio sobre a função renal, assim as concentrações séricas de IGA aos 51 e 60 dias de idade sugerem resposta do organismo, com maior atividade imunológica.

De forma geral, os níveis encontrados de anticorpos estão abaixo dos sugeridos por Tizard (2014). Em estudo utilizando selenometionina, aos níveis de 0,1 a 0,7mg/kg de selênio, Cao et al. (2014) não observaram efeito sobre os níveis de IGA, IGG e IGM, no entanto, as concentrações séricas desses anticorpos foram superiores aos encontrados nesse trabalho.

É importante ressaltar que as dietas que foram suplementadas adicionalmente com selenito de sódio e selênio levedura receberam níveis de selênio, portanto os animais que foram alimentados com a dieta controle receberam nível de selênio entre 0,276 a 0,265mg/kg presente nos ingredientes e no suplemento mineral, a dieta controle mais o nível adicional de 0,150mg/kg resultou em uma dieta com nível de selênio de 0,426 a 0,404mg/kg, já a dieta controle junto ao nível adicional de 0,300mg/kg resultou em uma dieta com níveis de selênio de 0,579 a 0,554mg/kg. Por essa razão, as dietas

com os maiores níveis, têm nível de selênio acima da exigência, e podem promover algumas situações negativas, a exemplo de um efeito tóxico.

As dietas experimentais afetaram ($P < 0,05$) a altura das vilosidades, profundidade das cripta, relação altura de vilosidade/ profundidade de cripta, largura de vilosidade e área absorviva do duodeno dos leitões (Tabela 8). Verificou-se que os leitões que consumiram a dieta controle em contraste com as dietas suplementadas com níveis adicionais de selênio, apresentaram maior altura e largura de vilosidades e, consequentemente uma maior área absorviva.

Tabela 7: Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade de criptas (PC), relação altura das vilosidades: profundidade das criptas (AV/PC), largura da vilosidade (LV) e área absorviva (AA) do duodeno de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

Var ⁶	Nível ¹	Fonte ³		Média	DC ²	Fatorial ⁴			EPM	Contrastes	EPM
	(mg/kg)	DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	
AV (µm)	0,150	273,46	298,1	285,78 _A	293,15	0,001	0,070	0,480	27,706	0,051*	80,471
	0,300	251,03	261,96	256,49 _B							
	Média	262,24	280,03								
PC (µm)	0,150	101,06	105,48	103,27 _A	96,93	<,0001	0,985	0,240	27,402	0,907	29,041
	0,300	92,44	88,25	90,34 _B							
	Média	96,75	96,86								
AV/PC	0,150	2,98	2,94	2,96	3,6	0,769	0,530	0,403	1,161	0,026*	2,073
	0,300	2,9	3,12	3,01							
	Média	2,94	3,03								
LV (µm)	0,150	120,98	116,08	118,53 _A	135,47	0,001	0,526	0,675	40,671	<,0001*	45,233
	0,300	101,98	101,57	101,77 _B							
	Média	111,48	108,83								
AA (µm ²)	0,150	34968,26	34909,4	34938,83 _A	40610,79	<,001	0,782	0,715	17792,150	<,0001*	19270,620
	0,300	25592,25	27285,45	26438,85 _B							
	Média	30280,26	31097,42								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito ($P > 0,05$). ¹ Nível de selênio suplementar. ² DC- Dieta Controle. ³ DSL- Dieta Selênio Levedura, DSS- Dieta Selenito de Sódio. ⁴ Valor P para N- Nível, F- Fonte e N*F- Interação entre Nível e Fonte. ⁵ Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. ⁶ Variável analisada. EPM- Erro Padrão da Média. * Efeito do contraste entre Dieta Controle e as demais.

Ao observar o efeito dos níveis de selênio, percebe-se que os leitões alimentados com dieta suplementa com nível adicional de 0,150mg/kg alteraram a morfologia em comparação com o nível 0,300mg/kg, independente da fonte. O nível mais baixo de

suplementação adicional proporcionou maior altura de vilosidades e maior largura de vilos, resultando em uma maior área absorptiva. Nessa situação a suplementação com o nível de 0,150mg/kg promoveu maior profundidade de cripta, possivelmente para manter a atividade dos vilos, pois essa ração não melhorou a relação altura de vilosidades/ profundidade de criptas (MAXWELL & CARTER 2000; CERA et al. 1988).

Não foi observado efeito ($P>0,05$) para as variáveis altura de vilosidades e relação altura de vilosidades/ profundidade de criptas do jejuno dos leitões alimentados com as dietas experimentais (Tabela 9). No entanto verificou-se que os leitões que consumiram a dieta controle, em contraste com as demais dietas aumentaram a largura de vilosidades. É possível verificar que a largura de vilosidades é influenciada pelo nível e fonte, apresentando um efeito de interação, sendo a maior largura de vilosidade atribuída aos animais alimentados com dieta suplementada com o nível adicional de 0,150mg/kg de selênio na forma química de selenito de sódio.

Ainda no jejuno verifica-se que os leitões que se alimentaram com as dietas contendo o maior nível adicional de selênio, 0,300mg/kg, independente da fonte, apresentaram maior profundidade de criptas, essas dietas podem ter provocado um desgaste no tecido epitelial, e esse aprofundamento nas criptas ocorreu devido a necessidade de renovação dos vilos, já que nesse caso o nível de 0,300mg/kg de selênio também provocou menor largura de vilos e consequentemente menor área absorptiva.

A resposta negativa do maior nível adicional de selênio sobre a morfometria do jejuno pode estar ligada a um possível efeito deletério do selênio já nas células absorptivas e na proliferação das células desse tecido, (JASPERS et al, 2007). Nesse sentido a biodisponibilidade do selênio pode ter relação com o comportamento da morfologia do intestino, visto que os animais que consumiram a dieta suplementada com selênio levedura tiveram uma maior profundidade de cripta de jejuno quando suplementado com maior nível de selênio (0,300mg/kg).

Tabela 8: Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade de criptas (PC), relação altura das vilosidades: profundidade das criptas (AV/PC), largura da vilosidade (LV) e área absortiva (AA) do Jejuno de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

Var ⁶	Nível ¹	Fonte ³		Média	DC ²	Fatorial ⁴			EPM	Contrastes	
	(mg/kg)	DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	EPM
AV (µm)	0,150	236,08	217,78	226,93	218,69	0,564	0,123	0,549	65,662	0,064	66,560
	0,300	235,85	229,33	232,59							
	Média	235,97	223,55								
PC (µm)	0,150	96,3	86,03	91,17_B	87,97	0,024	0,018	0,347	28,009	0,182	27,775
	0,300	101,81	96,67	99,24_A							
	Média	99,06_a	91,35_b								
AV/PC	0,150	2,68	2,7	2,69	2,68	0,083	0,674	0,892	0,972	0,806	0,991
	0,300	2,46	2,51	2,49							
	Média	2,57	2,6								
LV (µm)	0,150	108,24 _{Aa}	95,64 _{Bb}	101,94_A	107,6	<,0001	0,237	0,027	30,794	0,003*	34,222
	0,300	86,26 _{Bb}	90,1 _{Bb}	88,18_B							
	Média	97,25	92,87								
AA (µm ²)	0,150	26329,02	21298,36	23813,69_A	24422,63	0,011	0,083	0,055	11084,440	0,238	12295,870
	0,300	20601,32	20909,59	20755,46_B							
	Média	23465,17	21103,97								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito (P>0,05). ¹ Nível de selênio suplementar. ² **DC**- Dieta Controle. ³ **DSL**- Dieta Selênio Levedura, **DSS**- Dieta Selenito de Sódio. ⁴ Valor P para **N**- Nível, **F**- Fonte e **N*F**- Interação entre Nível e Fonte. ⁵ Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. ⁶ Variável analisada. **EPM**- Erro Padrão da Média. * Efeito do contraste entre Dieta Controle e as demais.

O consumo de ração pode estar relacionado com as respostas morfológicas, visto que os animais que consumiram a dieta suplementada com nível adicional de 0,300mg/kg de selênio, independente da fonte, apresentaram menor consumo de ração no período de 28 a 60 dias (Tabela 2). O baixo consumo de ração apresentado pelos animais no período pós desmame pode causar alterações morfológicas, visto que os segmentos intestinais necessitam obter nutrientes suficientes para atender às demandas de síntese e crescimento de proteínas da mucosa, provocando encurtamento e modificação na estrutura das vilosidades e hiperplasia das células da cripta (PLUSKE et al., 1997; LIN et al., 2014).

Quando observado a taxa de mitose celular, verifica-se que as dietas influenciaram (P<0,05) o processo de proliferação celular no duodeno e jejuno. Os

animais que foram alimentados com a dieta controle, em contraste com as demais dietas, tiveram menor resposta das células de cripta de jejuno, marcadas positivamente em resposta ao anti-PCNA (Tabela 10). Nas criptas do duodeno a maior taxa de mitose foi vista nos animais que consumiram as dietas com o nível adicional de 0,150mg/kg de selênio, assim como os animais alimentados com dieta suplementada com selenito de sódio.

O processo de mitose tem estreita relação com a altura das vilosidades e, principalmente, a relação vilo/cripta, assim como ambos estão ligados ao processo de apoptose (FURLAN et al., 2004). Portanto, a maior taxa de mitose no duodeno dos animais alimentados com dieta suplementada com o nível adicional de 0,150mg/kg de selênio, responde a maior altura de vilosidade, e tem relação com o aprofundamento das criptas já que essas estão em processo de multiplicação intenso. A fonte de suplementação influenciou o processo de mitose no duodeno, os animais alimentados com dieta suplementada com selênio levedura apresentaram maior taxa de mitose celular ($P < 0,05$) nas criptas do duodeno. A imunohistoquímica com anti-PCNA nas criptas de duodeno e jejuno pode ser observada nas figuras 2 e 3 respectivamente.

Tabela 9: Taxa de mitose celular com anti-PCNA no duodeno e jejuno de leitões desmamados, alimentados com suplementação de selênio *On Top* de selênio a partir de duas fontes (selênio levedura ou selenito de sódio) em dois níveis (0,15 ou 0,30 mg/kg)

Taxa de mitose celular											
	Nível ¹	Fontes ³		Média	DC ²	Fatorial ⁴			EPM	Contrastes	EPM
	(mg/kg)	DSL	DSS			N	F	N*F		DC x Demais	
Duodeno	0,15	752,8	909,81	831,31_A	767,61	0,031	<,0001	0,314	165,817	0,700	165,998
	0,3	619,23	860,39	739,81_B							
	Média	686,02_b	885,10_a								
Jejuno	0,15	955,48	997,79	976,63	872,65	0,097	0,585	0,497	195,386	0,050*	192,333
	0,3	921,16	916,57	918,86							
	Média	938,32	957,18								

Letras maiúsculas comparam médias entre linhas e letras minúsculas entre colunas pelo teste T de Student, ao efeito ($P > 0,05$). ¹ Nível de selênio suplementar. ² **DC**- Dieta Controle. ³ **DSL**- Dieta Selênio Levedura, **DSS**- Dieta Selenito de Sódio. ⁴ Valor P para **N**- Nível, **F**- Fonte e **N*F**- Interação entre Nível e Fonte. ⁵ Valor P do contraste entre a Dieta Controle versus os demais tratamentos. ⁶ Variável analisada. **EPM**- Erro Padrão da Média. * Efeito do contraste entre Dieta Controle e as demais.

Os radicais livres podem induzir apoptose em células epiteliais das vias aéreas (OKADA et al., 2004; COMHAIR et al., 2005). Sabendo da ação das selenoproteínas no controle antioxidante, células deficientes em selênio têm nível maior de caspase 3

ativada, indicando maior morte celular por apoptose. No entanto, morte celular apoptótica é frequentemente considerada como parte da resposta de defesa do hospedeiro, porque ela desliga as células replicadoras de vírus sem induzir uma resposta inflamatória (ZHIRNOV et al., 2002; JASPERS et al, 2007)

A morfologia do intestino está relacionada com o comportamento de turnover celular (PLUSKE et al., 1997), portanto, o processo de apoptose pode influenciar a taxa de mitose nas criptas, e consequentemente os valores de altura de vilos e aprofundamento das criptas. Por essa razão o maior nível de suplementação de selênio, e, consequentemente, a atividade inibitória exagerada de processos oxidativos, pode influenciar o comportamento normal de turnover celular no intestino.

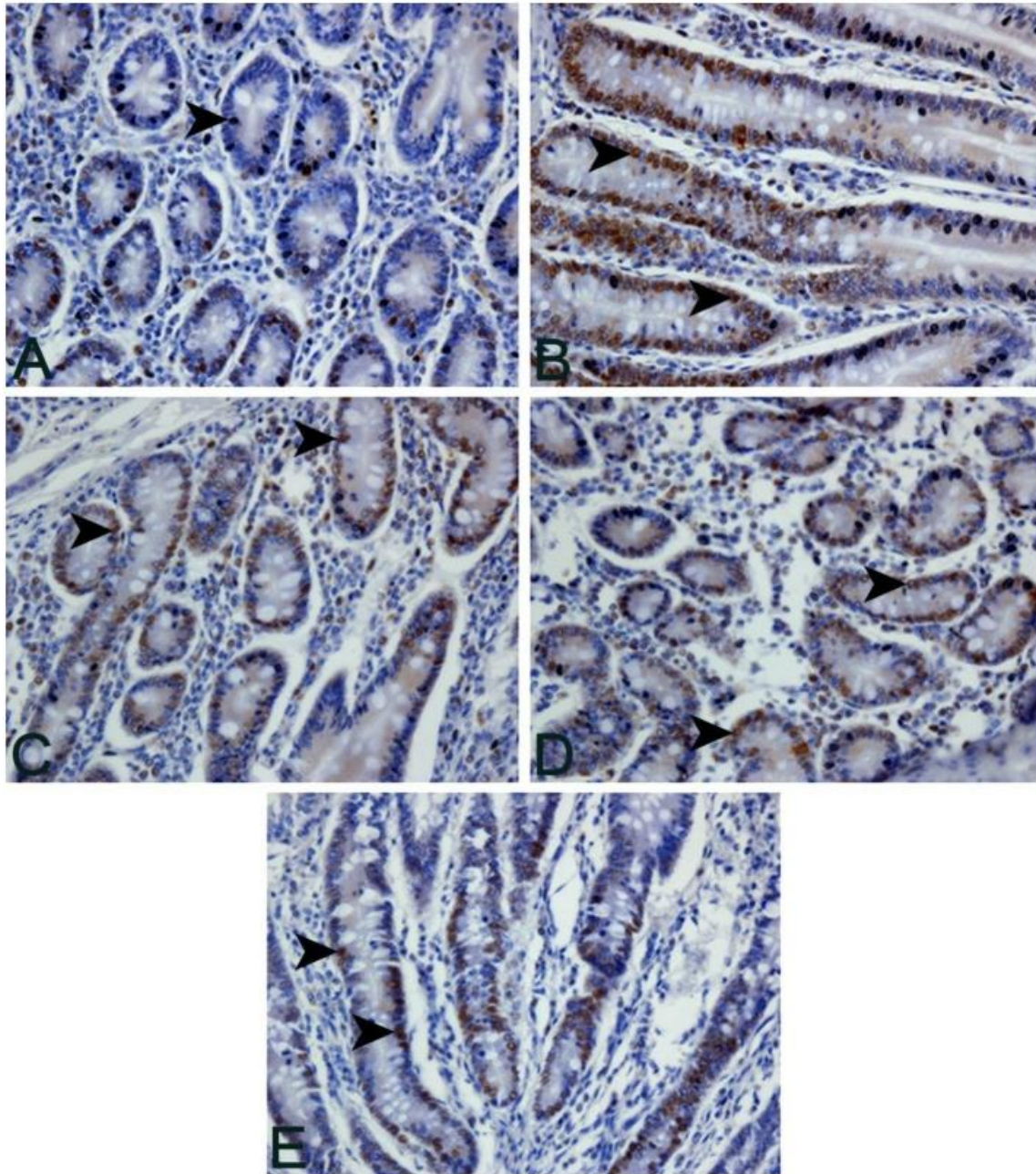


Figura 2: Imunohistoquímica para anti-PCNA nas criptas de duodeno de suínos com 60 dias de idade. A) Dieta controle sem adição de selênio; B) DSL-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selênio levedura; C) DSS-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selenito de sódio; D) DSL-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selênio levedura; E) DSS-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selenito de sódio. Observar maior positividade nuclear ao anti-PCNA (pontas de setas) nos tratamentos com dieta adicionada de 0,150mg/kg de selênio. Coloração de cromógeno diaminobenzidina (DAB) + hematoxilina.

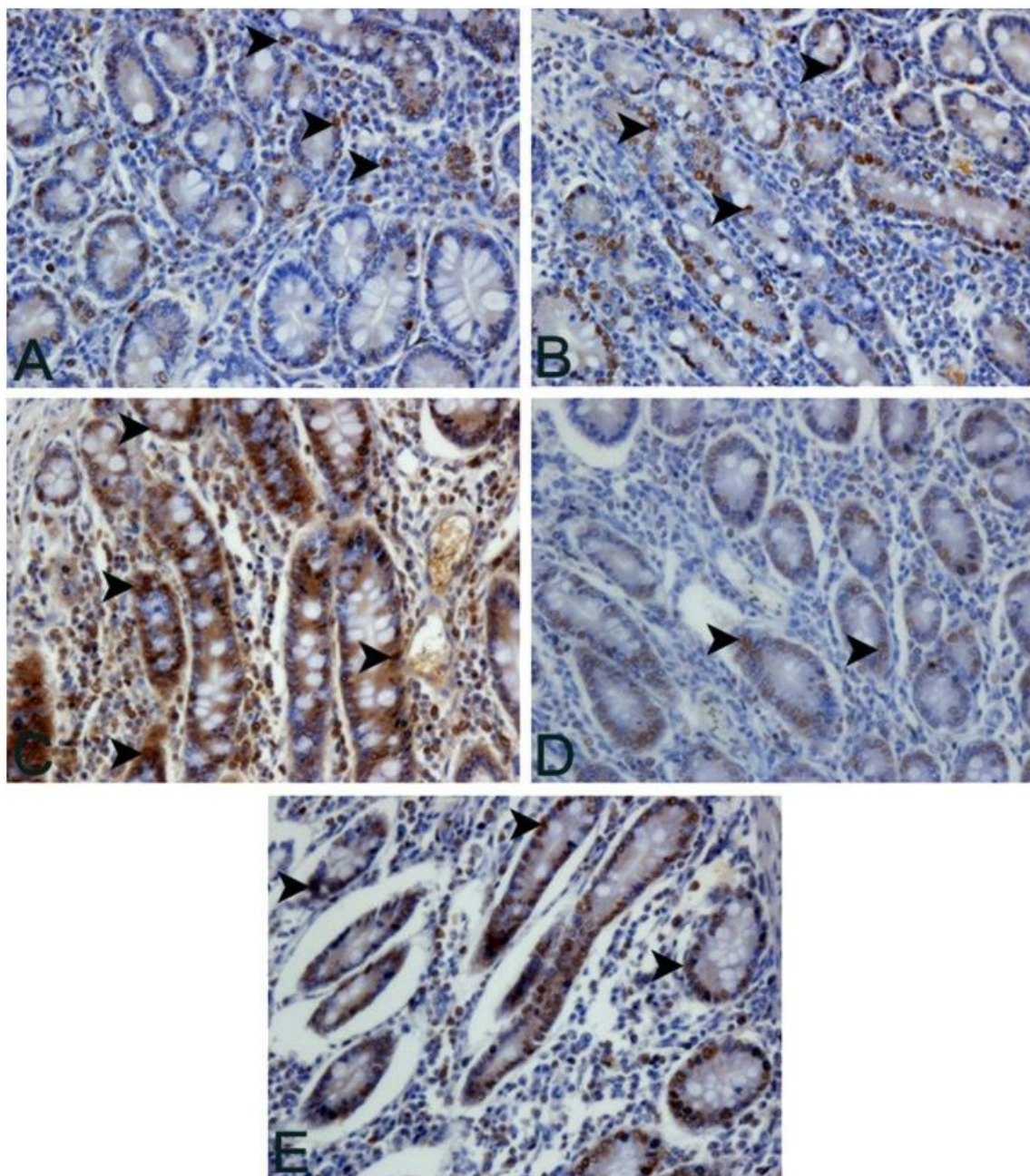


Figura 3: Imunohistoquímica para anti-PCNA nas criptas de jejuno de suínos com 60 dias de idade. A) Dieta controle sem adição de selênio; B) DSL-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selênio levedura; C) DSS-0,150 – Dieta controle com 0,150 mg/kg adicional de selenito de sódio; D) DSL-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selênio levedura; E) DSS-0,300 – Dieta controle com 0,300 mg/kg adicional de selenito de sódio. Observar maior positividade nuclear ao anti-PCNA (pontas de setas) nos tratamentos com dieta adicionada de 0,150mg/kg de selênio. Coloração de cromógeno diaminobenzidina (DAB) + hematoxilina.

4. CONCLUSÃO

Recomenda-se a suplementação adicional de 0,150mg/kg de selênio, independente da fonte, entendendo-se que o nível adicional de 0,300mg/kg pode causar efeito deletério sobre o consumo, alterações metabólicas e sobre a morfologia do intestino, indicando toxicidade.

5. REFERÊNCIAS

- ARANTES, V. M. et al. Níveis de zinco na dieta de leitões recém-desmamados sobre o perfil de parâmetros sanguíneos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 193-206, 2007.
- ARTHUR, J. R.; MCKENZIE, R. C.; BECKETT, G. J. Selenium in the immune system. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1457S-1459S, 2003.
- BECK, M. A. et al. Rapid genomic evolution of a non-virulent coxsackievirus B3 in selenium-deficient mice results in selection of identical virulent isolates. **Nature medicine**, v. 1, n. 5, p. 433-436, 1995.
- CAO, J. et al. Effects of dietary Selenomethionine supplementation on growth performance, antioxidant status, plasma selenium concentration, and immune function in weaning pigs. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 46, 2014.
- CARVALHO, G. B. et al. Métodos de análise da cinza insolúvel em ácido utilizada como indicador na determinação da energia metabolizável do milho para aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 1, 2013.
- DALGAARD, T. S., BRIENS, M., ENGBERG, R. M., & LAURIDSEN, C. The influence of selenium and selenoproteins on immune responses of poultry and pigs. **Animal Feed Science and Technology**, 238, 73-83, 2018.
- CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F. Effect of age, weaning and post weaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, p.574- 584, 1988.
- COMHAIR, S. A., XU, W., GHOSH, S., THUNNISSEN, F. B., ALMASAN, A., CALHOUN, W. J., ... & ERZURUM, S. C. Superoxide dismutase inactivation in pathophysiology of asthmatic airway remodeling and reactivity. **The American journal of pathology**, 166(3), 663-674, 2005.
- DONG, G. Z. & PLUSKE, J. R. The low feed intake in newly-weaned pigs: problems and possible solutions. **Asian-australasian journal of animal sciences**, v. 20, n. 3, p. 440-452, 2007.
- DOWARAH, R. et al. Effect of swine based probiotic on performance, diarrhoea scores, intestinal microbiota and gut health of grower-finisher crossbred pigs. **Livestock Science**, [s.l.], v. 195, p.74-79, jan. 2017.
- FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: **Simpósio técnico de incubação, matrizes de corte e nutrição**, 5., 2004. Balneário Camboriú. Anais... Balneário Camboriú, p. 6-28, 2004.

HAN, J. et al. Dietary L-arginine supplementation alleviates immunosuppression induced by cyclophosphamide in weaned pigs. **Amino acids**, v. 37, n. 4, p. 643-651, 2009.

HUANG, Z; ROSE, A. H.; HOFFMANN, P. R. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants & redox signaling**, v. 16, n. 7, p. 705-743, 2012.

JAYARAMAN, B. & NYACHOTI, C. M. Husbandry practices and gut health outcomes in weaned piglets: A review. **Animal Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 205-211, 2017.

JASPERS, I., ZHANG, W., BRIGHTON, L. E., CARSON, J. L., STYBLO, M., & Beck, M. A. Selenium deficiency alters epithelial cell morphology and responses to influenza. **Free Radical Biology and Medicine**, 42(12), 1826-1837, 2007.

KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4. ed. London: Academic Press, 1989.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press, 1997.

LI, Q. & PATIENCE, J. F. Factors involved in the regulation of feed and energy intake of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, 2016.

LIN M.; ZHANG B.; YU C. et al. L-Glutamate Supplementation Improves Small Intestinal Architecture and Enhances the Expressions of Jejunal Mucosa Amino Acid Receptors and Transporters in Weaning Piglets. **Plos One**, 2014.

LIU, Y. et al. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by Escherichia coli lipopolysaccharide in weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 100, n. 3, p. 552-560, 2008.

LIU, Y. et al. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs. **Animal Nutrition**, 2018.

LOOFT, T. et al. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 5, p. 1691-1696, 2012.

LUBOS, E.; LOSCALZO, J.; HANDY, D. E. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants & redox signaling**, v. 15, n. 7, p. 1957-1997, 2011.

LUNA, A. C. L. ; PASSOS, C. C. ; FERREIRA, A. O. et al . Expression of progranulin during the first stages of liver development in rat Fischer 344. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** (Impresso), v. 50, p. 270-278, 2014.

LYONS, M. P.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from nature. **Asian-Aust. J. Anim. Sci**, v. 20, n. 7, p. 1135-1155, 2007.

- MAHAN, D. C. Effect of organic and inorganic selenium sources and levels on sow colostrum and milk selenium content. **Journal of animal science**, v. 78, n. 1, p. 100-105, 2000.
- MAHAN, D. C.; PETERS, J. C. Long-term effects of dietary organic and inorganic selenium sources and levels on reproducing sows and their progeny. **Journal of animal science**, v. 82, n. 5, p. 1343-1358, 2004.
- MAXWELL JR, C. V. & CARTER, S. D. Feeding the weaned pig. In: **Swine nutrition**. CRC Press, p. 690-714. 2000.
- MCKENZIE, R. C.; RAFFERTY, T. S.; BECKETT, Geoffrey J. Selenium: an essential element for immune function. **Immunology today**, v. 19, n. 8, p. 342-345, 1998.
- MOREIRA FILHO, A.L.B.; OLIVEIRA, C.J.B.; OLIVEIRA, H.B. et al. High Incubation Temperature and Threonine Dietary Level Improve Ileum Response Against Post Hatch *Salmonella* Enteritidis Inoculation in Broiler Chicks. **Plos One**, 2015.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. National Academies Press, 2012.
- OKADA, M., SUGITA, K., INUKAI, T., GOI, K., KAGAMI, K., KAWASAKI, K., & NAKAZAWA, S. Hepatocyte growth factor protects small airway epithelial cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor- α or oxidative stress. **Pediatric research**, 56(3), 336, 2004.
- PAPP, L. V. et al. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. **Antioxidants & redox signaling**, v. 9, n. 7, p. 775-806, 2007.
- PASCOAL, L. A. F. et al. Fiber sources in diets for newly weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.636-642, mar. 2012.
- PLUSKE, J. R.; WILLIAMS, I. H.; AHERNE, F. X. Nutrition of the neonatal pig. **The neonatal pig: development and survival**, p. 187-235, 1995.
- PLUSKE J.R.; HAMPSON D.J. & WILLIAM I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaning pig: a review. **Livestock Production Science**. 51: 215-236, 1997
- POULSEN, H. D. & LARSEN, T. Zinc excretion and retention in growing pigs fed increasing levels of zinc oxide. **Livestock production science**, v. 43, n. 3, p. 235-242, 1995.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 403p, 2017.

- RINCKER, M. J. et al. Effects of dietary zinc and iron supplementation on mineral excretion, body composition, and mineral status of nursery pigs. **Journal of animal science**, v. 83, n. 12, p. 2762-2774, 2005.
- SAKOMURA, N. K. & ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007.
- SCHRAUZER, G. N. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 7, p. 1653-1656, 2000.
- SILVA, D. R. P. Adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém desmamados. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. Orientador: Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, 2015.
- SURAI, P. F. & FISININ, V. I. Selenium in poultry breeder nutrition: An update. **Animal Feed Science and Technology**, v. 191, p. 1-15, 2014.
- SURAI, P. F.; FISININ, V. I. Selenium in sow nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 211, p. 18-30, 2016.
- TENNANT, B. C. Hepatic function. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals (Fifth Edition)**. p. 327-352.1997.
- TIZARD, I. **Imunologia veterinária**. Elsevier Brasil, 2014.
- TURNER, R. J.; FINCH, J. M. Selenium and the immune response. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 50, n. 2, p. 275-285, 1991.
- VIANA SANTOS, A. et al. ADITIVOS ANTIBIÓTICO, PROBIÓTICO E PREBIÓTICO EM RAÇÕES PARA LEITÕES DESMAMADOS PRECOCEMENTE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 1, 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Trace elements in human nutrition and health**. World Health Organization, 1996.
- YOON, I. & MCMILLAN, E. Comparative effects of organic and inorganic selenium on selenium transfer from sows to nursing pigs. **Journal of animal science**, v. 84, n. 7, p. 1729-1733, 2006.
- ZHAN, X. et al. Effects of different selenium source on selenium distribution, loin quality and antioxidant status in finishing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, n. 3-4, p. 202-211, 2007.
- ZHAN, X. et al. Selenomethionine: an effective selenium source for sow to improve Se distribution, antioxidant status, and growth performance of pig offspring. **Biological trace element research**, v. 142, n. 3, p. 481-491, 2011.

ZHIRNOV, O. P., KONAKOVA, T. E., WOLFF, T., & KLENK, H. D. NS1 protein of influenza A virus down-regulates apoptosis. *Journal of virology*, 76(4), 1617-1625, 2002.

ZOIDIS, E. et al. Meta-analysis of selenium accumulation and expression of antioxidant enzymes in chicken tissues. **animal**, v. 8, n. 4, p. 542-554, 2014.